

SKRIPSI

MAYA SWASTYASARI

**GAMBARAN KLINIS DAN HISTOPATOLOGIS
DARI AYAM PEDAGING YANG DIINFEKSI**

Mycoplasma Gallisepticum



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
1989**

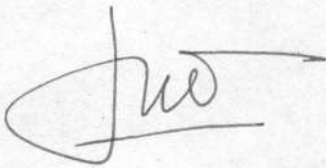
GAMBARAN KLINIS DAN HISTOPATOLOGI
DARI AYAM PEDAGING YANG DIINFEKSI
MYCOPLASMA GALLISEPTICUM

SKRIPSI

DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA SEBAGAI SALAH SATU SYARAT UNTUK
MEMPEROLEH GELAR DOKTER HEWAN

OLEH

MAYA SWASTYASARI



(drh.DIDIK HANDIJATNO,MS)

Pembimbing pertama



(drh.ACHMAD SADIK)

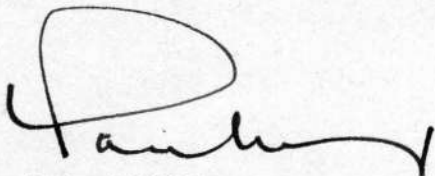
Pembimbing kedua

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

1989

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar *Dokter Hewan* dan telah dinyatakan lulus pada hari Rabu, tanggal 27 Desember 1989.

Panitia Penguji



(Prof. Dr. SOEHARTOJO. H., MSc)

Ketua



(drh. ROCHIMAN SASMITA, MS)

Sekretaris



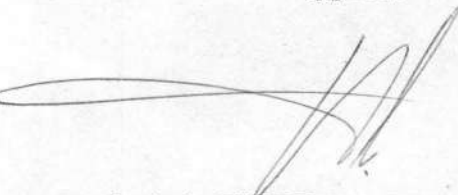
(drh. DIDIK HANDIJATNO, MS)

Anggota



(drh. ACHMAD SADIK)

Anggota



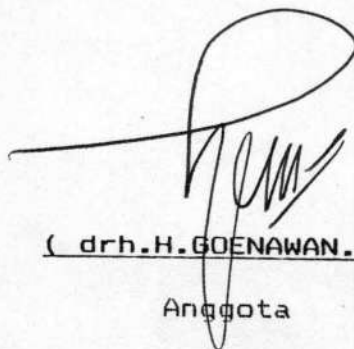
(drh. CHOESNAN EFFENDI, MS)

Anggota



(drh. MOHAMMAD MOENIF, MS)

Anggota



(drh. H. GOENAWAN. T)

Anggota

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kepada Tuhan Yang Esa atas Rakhmat dan Karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan naskah skripsi ini.

Penulisan naskah skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar dokter hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Pada kesempatan ini penulis sampaikan terima kasih yang setulus-tulusnya atas bimbingan dan saran-saran dalam penulisan naskah skripsi ini kepada : - drh. DIDIK HANDIJATNO, MS, selaku pembimbing pertama dan drh. AKHMAD SADIK, selaku pembimbing kedua serta semua pihak yang telah membantu serta membimbing penulis dalam penulisan naskah skripsi ini.

Semoga penulisan naskah skripsi ini dapat bermanfaat bagi almamater, masyarakat, dunia kedokteran hewan dan peternakan.

Surabaya, Desember 1989

Penulis.

DAFTAR ISI

	Halaman.
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR LAMPIRAN	iv
DAFTAR GAMBAR	v
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
1. Sejarah Penyakit	4
2. Morfologi dan sifat kuman	6
3. Daya tahan kuman	7
4. Patogenesis	8
5. Diagnosa	10
5.1. Gejala klinis	10
5.2. Perubahan patologis anatomis	12
5.3. Pemeriksaan laboratorium secara bakteriologi	12
6. Diagnosa banding	13
7. Penanggulangan penyakit	15
BAB III BAHAN DAN METODA PENELITIAN	21
1. Tempat dan Waktu Penelitian	21
2. Bahan Penelitian	21
3. Metode Penelitian	22
BAB IV HASIL PENELITIAN	28
BAB V PEMBAHASAN	34

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	41
BAB VII RINGKASAN	43
DAFTAR PUSTAKA	48

DAFTAR TABEL

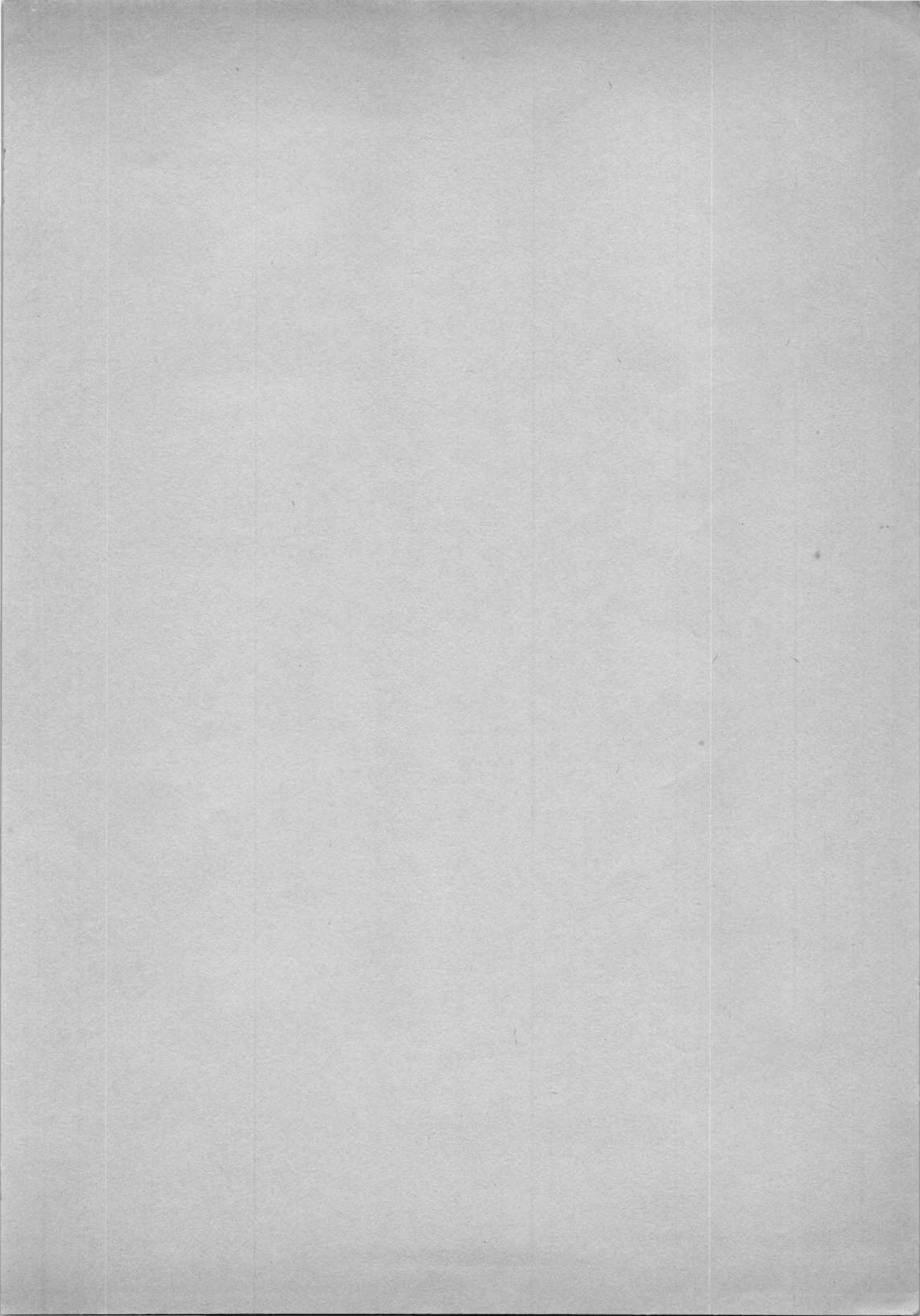
Nomer	Halaman.
1. Tabel 1: Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang <u>M.gallisepticum</u> pada kelompok perlakuan pada minggu ke II	30
2. Tabel 2: Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang <u>M.gallisepticum</u> pada kelompok perlakuan pada minggu ke IV	31
3. Tabel 3: Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang <u>M.gallisepticum</u> pada kelompok perlakuan pada minggu ke VI	31
4. Tabel 4: Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang <u>M.gallisepticum</u> pada kelompok kontrol pada minggu ke II	32
5. Tabel 5: Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang <u>M.gallisepticum</u> pada kelompok kontrol pada minggu ke IV	32
6. Tabel 6: Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang <u>M.gallisepticum</u> pada kelompok kontrol pada minggu ke VI	33

DAFTAR LAMPIRAN

Nomer		Halaman.
1 - 2.	Hasil uji tantang pada ayam yang mati pada kelompok perlakuan dan kontrol.	51
3.	Kandungan kuman dari isolat <u>Myco-</u> <u>plasma gallisepticum</u> pada penentu- an LD ₅₀	53
4 - 6	Analisis data dengan uji Chi Kwadrat pada perbedaan ayam yang mati.	54
7 - 12	Hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan.	57
13 - 15	Analisis data dengan uji Chi Kwadrat pada perbedaan kerusakan organ.	63
16	Cara pembuatan preparat histologis	66
17	Media Mycoplasma Agar Base dan Phosphat Buffer Saline.	70
18	Nilai persentil untuk distribusi χ^2	71

DAFTAR GAMBAR

Nomer	Halaman.
1. Koloni kuman <u><i>Mycoplasma galli-septicum.</i></u>	45
2. Perubahan pasca mati dari ayam yang mati akibat infeksi <u><i>Mycoplasma galli-septicum.</i></u>	45
3. Perubahan histopatologis pada sinus ayam yang diinfeksi <u><i>Mycoplasma galli-septicum.</i></u>	46
4. Perubahan histopatologis pada paru ayam yang diinfeksi <u><i>Mycoplasma galli-septicum</i></u>	46
5. Perubahan histopatologis pada trachea ayam yang diinfeksi <u><i>Mycoplasma galli-septicum</i></u>	47
6. Perubahan histopatologis pada trachea ayam yang diinfeksi <u><i>Mycoplasma galli-septicum</i></u>	47



B A B I

P E N D A H U L U A N

1. Latar Belakang Permasalahan.

Pada masa pembangunan sekarang ini berbagai kebutuhan masyarakat meningkat secara terus menerus terutama kebutuhan akan pangan. Hal ini sejalan dengan kesadaran masyarakat akan pentingnya gizi juga ditunjang dengan meningkatnya pendapatan masyarakat. Untuk memenuhi permintaan yang semakin tinggi, maka pemerintah berupaya untuk meningkatkan populasi dan produksi ternak terutama disektor perunggasan, karena telur dan daging ayam adalah protein hewani yang relatif harganya lebih murah daripada daging sapi sehingga terjangkau oleh masyarakat umumnya.

Permintaan daging yang meningkat ini memerlukan dukungan yang seimbang dengan sarana penyediaan daging yang memadai. Kenyataannya tidak demikian, permintaan daging yang meningkat ini kurang ditunjang oleh penyediaan daging yang memadai, sehingga perlu dilakukan upaya untuk mencapai keseimbangan. Usaha yang harus ditempuh antara lain lebih meningkatkan produksi dan produktivitas kerja dibidang produksi pangan, terutama bahan pangan asal hewan (Anonymous, 1984).

Tersedianya sarana produksi peternakan dengan baik lancar dan terus menerus/rutin merupakan titik awal dari dimulainya suatu usaha peternakan, dan ini merupakan idam-idaman para peternak. Pada dasarnya, setiap peternak

sangat mendambakan keberhasilan dalam mengelola usaha peternakannya. Berhasil dalam memelihara sehingga dapat berproduksi optimal, berhasil dalam memasarkan produksi ternaknya dan berhasil meraih keuntungan. Akan tetapi jalan untuk mencapai keberhasilan tersebut tidak selamanya mulus, banyak hambatan yang harus ditanggulangi, banyak masalah yang harus diselesaikan agar mencapai tujuan tersebut.

Salah satu masalah yang harus dipecahkan agar peternak ayam dapat berhasil adalah masalah penyakit yang masih banyak terdapat di peternakan peternakan ayam dan sangat merugikan peternak ayam. Dari sekian banyak penyakit ayam, salah satunya adalah Chronic Respiratory Disease (CRD) atau penyakit pernafasan menahun yang disebabkan *Mycoplasma gallisepticum*, penyakit CRD ini seringkali berjangkit dipeternakan ayam diseluruh Indonesia (Anonymous, 1988).

Penyakit CRD ini merupakan suatu penyakit menular menahun pada unggas yang dapat mengakibatkan kerugian ekonomis yang tidak sedikit, akibat yang ditimbulkan antara lain menghambat pertumbuhan, menurunkan produksi telur pada ayam dewasa serta dapat menyebabkan kematian pada anak ayam. Selain itu tanda-tanda klinis penyakit pernafasan menahun mirip dengan penyakit saluran pernafasan lainnya, sehingga perlu diperhatikan beberapa penyakit yang secara klinis mempunyai gambaran yang sama, dimana pengetahuan peternak

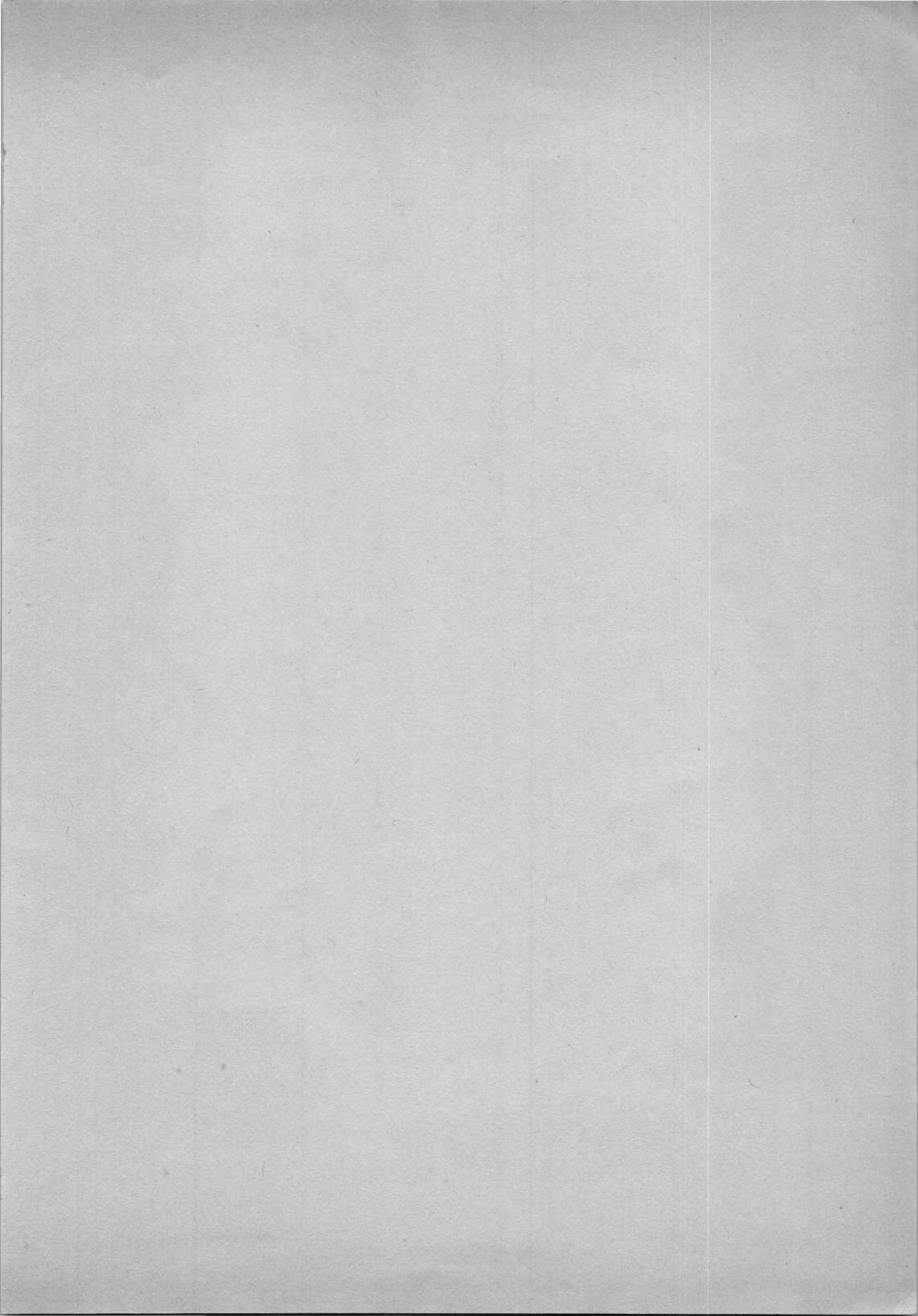
dalam melakukan diagnosa terhadap penyakit saluran pernafasan masih sangat kurang sehingga dalam pemeriksaan berdasarkan gejala klinis dan patologi anatomis dilapangan sering dikelirukan dengan penyakit lainnya, serta pada pemeriksaan laboratoris secara bakteriologis juga sering mengalami kegagalan pada pembuktian agen penyebabnya sehingga dalam melakukan diagnosa selain gejala klinis, patologi anatomis dan pemeriksaan laboratoris hendaknya ditunjang pemeriksaan histopatologis (Hofstad et al., 1984 ; Hungerford, 1969).

2. Tujuan Penelitian.

Berdasarkan masalah diatas maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran klinis dan histopatologis pada ayam pedaging yang diinfeksi dengan *Mycoplasma gallisepticum* setelah dilakukan vaksinasi.

3. Manfaat Penelitian.

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat dilakukan tindakan-tindakan dan langkah-langkah selanjutnya yang perlu dilakukan untuk penanggulangannya sehingga kerugian yang lebih besar dapat dihindarkan.



B A B II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Sejarah Penyakit.

"Chronic Respiratory Disease" atau penyakit pernafasan menahun pada unggas adalah penyakit respirasi yang disebabkan oleh Mycoplasma gallisepticum. Penyakit pernafasan menahun ini dapat menyerang ayam dan unggas peliharaan seperti: merak, burung dara, burung puyuh, ayam mutiara dan ayam hutan. Ayam dan kalkun merupakan hewan yang paling rentan (Hungerford, 1969).

Chronic Respiratory Disease mempunyai banyak sinonim diantaranya: Mycoplasma gallisepticum infection, CRD complex, Pleuro Pneumonia Like Organism (PPLO), Air sacculitis, Air Sac infection, Nelson's mycoplasmosis, Muroid tracheitis, Air saccitis, Air sac Disease (Hungerford, 1969 ; Yoder, 1984).

Nelson's (1935) yang dikutip oleh Yoder (1984) adalah orang yang pertama kali mempelajari Mycoplasmosis pada ayam dengan cara mengisolasi kuman yang berbentuk coccobacil dari ayam yang menderita koryza. Rokel dan Oleziuk (1955) yang dikutip oleh Yoder (1984) menyimpulkan bahwa kuman yang berbentuk cocco bacil tersebut digolongkan pada Pleuro Pneumonia Like Organism (PPLO) dan diduga memegang peranan penting pada penyakit pernafasan menahun pada ayam dan infectious sinusitis pada kalkun.

Pada tahun 1977, Poernomo berhasil mengisolasi Mycoplasma gallisepticum untuk pertama kalinya di Indonesia dari seekor anak ayam broiler kurang lebih umur enam minggu yang berasal dari peternakan sekitar Bogor.

Menurut Nelson's (135) yang dikutip dari Yoder (1984) kuman tersebut dapat tumbuh baik pada media infusion broth yang ditambah 30 % serum kuda sebagai penyubur, dari hasil perbenihan serta bentuk kuman Mycoplasma yang berbentuk batang pendek kuman tersebut dapat dimasukkan dalam golongan Pleuro Pneumonia Like Organism.

Delaplene dan Stuart (1943) yang dikutip oleh Yoder (1984) dapat membiakkan kuman yang diisolasi dari ayam tertular dengan Mycoplasma serta kalkun yang menderita sinusitis kedalam suatu media, dimana dari hasil biakkannya tersebut dapat ditularkan pada telur ayam bertunas. Selanjutnya Nelson's (1935) yang dikutip oleh Yoder (1984) dapat juga membiakkan Mycoplasma pada Tissue Culture.

Penyakit ini walaupun angka kematiannya kecil (1 - 5 %) tetapi morbiditasnya dapat mencapai 100 %, hal ini menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup besar berupa kematian anak ayam maupun dewasa (1 - 5 %), penurunan berat badan (10 %), penurunan produksi telur (10 %) dan berkurangnya daya tetas telur (Partadiredja dkk, 1981).

Penyakit pernafasan menahun pada ayam terutama ayam muda saat ini menimbulkan masalah yang penting pada peternakan unggas diseluruh dunia (Yoder, 1984).

2. Morfologi dan Sifat Kuman.

Mycoplasma sebagai penyebab penyakit pernafasan menahun pada ayam tergolong didalam :

- Ordo : Mycoplasmatalis.
- Famili : Mycoplasmataceae.
- Genus : *Mycoplasma*.
- Species : *Mycoplasma gallisepticum*.

Pada saat ini telah ditemukan sebanyak 20 serotype *Mycoplasma* yang berasal dari unggas dan dari sekian banyak serotype yang ada hanya 3 yang dianggap penting dan bersifat patogen adalah *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synovia*, *Mycoplasma meleagridis* (Yoder, 1984).

Menurut Fabricant (1969) yang dikutip oleh Bruner (1971) bahwa *Mycoplasma gallisepticum* adalah mycoplasma unggas yang dimasukkan dalam avian serotype A.

Mycoplasma gallisepticum termasuk dalam : Pleuro Pneumonia Like Organism. Kuman ini berbentuk batang pendek dan bergerombol kadang-kadang sendiri-sendiri dengan garis tengah 0,25 sampai 0,30 mikron, menyerap warna Giemsa bersifat gram negatif , tidak mempunyai flgella, tidak berkapsul serta tidak berspora. Kuman ini dapat melalui

saringan selas 0,2 , Berkefeld V&N , Mandler 6 dan 7 sedang kuman yang berasal dari perbenihan kaldu dapat juga melalui selas 0,2 tetapi tertahan oleh selas 0,3 (Hungerford, 1969; Merchant and Parker, 1971). Pada media agar yang ditambah dengan 10 - 15 % serum dari babi, ayam atau kuda yang sebelumnya diinaktifkan lebih dahulu dalam penangas air, kuman akan membentuk koloni kecil bulat ditengahnya berwarna gelap dan kuman tersebut dapat mengaglutinasi sel-sel darah merah yang berasal dari ayam dan kalkun (Anonymous, 1981 ; Hungerford, 1969).

3. Daya Tahan Kuman.

Kuman *Mycoplasma gallisepticum* mempunyai sifat tidak tahan terhadap berbagai zat kimia, desinfektan serta tidak tahan terhadap panas. Dapat tahan hidup pada kotoran ayam selama 1 - 3 hari pada suhu 20⁰ C. Pada kuning telur ayam bertunas bila diinkubasikan pada suhu 37⁰ C dapat tahan selama 18 minggu, bila diinkubasikan pada suhu 20⁰ C dapat hidup selama 6 minggu. Sedangkan suspensi membran chorio allantois yang terinfeksi akan kehilangan daya infeksiya bila dipanaskan pada suhu 45⁰ C selama 1 jam, pada suhu 50⁰ C selama 20 menit atau selama 3 minggu pada suhu 5⁰ C serta didalam kaldu dapat tahan hidup selama 2 - 4 tahun jika disimpan pada suhu -30⁰ C (Yoder, 1984).

Menurut Hart (1940) yang dikutip oleh Hungerford (1969) mengatakan bahwa cairan dari hidung seekor kalkun

yang menderita penyakit sinusitis bila disimpan dalam lemari pendingin (suhu 4°) dalam gliserin maka kuman *Mycoplasma gallisepticum* dapat tahan hidup selama 14 hari.

4. Patogenesis.

Hewan yang dapat terserang oleh penyakit pernafasan menahun adalah unggas jenis ayam, kalkun, ayam hutan, burung puyuh, burung merpati, merak (Yoder, 1984). Penyakit ini biasanya timbul pada waktu ayam berumur 4 - 8 minggu (Gordon dan Jordan, 1982 ; Seneviratna, 1969). Penyakit ini biasanya menyerang ayam dalam suatu kelompok akan tetapi berbeda derajat keparahannya, lama atau tidaknya ayam tersebut menderita sakit. Hewan yang lebih muda akan lebih parah dibandingkan dengan yang dewasa. Masa inkubasi penyakit CRD berkisar antara 4 sampai 21 hari (Anonymous , 1981 ; Ressay, 1983). Ayam yang terinfeksi oleh *Mycoplasma gallisepticum* akan mengalami stress sehingga daya tahan tubuhnya lemah dan mudah terinfeksi oleh mikroorganisme lain (Grumble et al., 1952).

Jersted dkk (1950) yang dikutip oleh Hungerford (1969) melakukan penularan penyakit secara sub kutan, usapan pada bagian dalam trachea dapat ditularkan secara kontak langsung diantara hewan yang sehat dengan yang sakit. Selanjutnya pada tahun 1967 Jersted melakukan percobaan dengan mengisolasi kuman *Mycoplasma gallisepticum* pada ayam jantan, kemudian ayam yang sudah tertular tersebut dicampur dalam satu kandang dengan ayam yang sehat , maka ayam

tersebut akan menularkan penyakit ke hewan sehat lainnya.

Yoder (1984) mengatakan bahwa penularan penyakit pernafasan menahun dapat terjadi melalui telur, hal ini dibuktikan dengan keberhasilannya mengisolasi *Mycoplasma gallisepticum* dari ovarium, saluran telur (oviduct), dan telur ayam bertunas. Penularan penyakit ini dapat terjadi secara vertikal, horisontal atau buatan.

Wabah penyakit pernafasan menahun dapat terjadi pada suatu peternakan setelah ada pemasukkan hewan baru diperkirakan ayam tersebut bertindak sebagai pembawa penyakit sedangkan ayam tersebut tidak menunjukkan gejala apapun. Hal ini sering dijumpai pada ayam peliharaan dan merupakan salah satu faktor penting didalam penyebaran penyakit, karena cairan radang yang berasal dari hidung dapat mencemari makanan, air minum atau peralatan yang digunakan sehingga dapat menularkan penyakit pada hewan lainnya. Selain itu penularan dapat terjadi melalui pakaian, kantong ransum makanan ayam dan diperkirakan penularan antar peternakan diakibatkan oleh bibit penyakit yang dibawa oleh karyawan-karyawan dalam peternakan (Gordon dan Yordan, 1982; Hungerford, 1969 ; Nugroho, 1981 ; Rumawas, 1976).

Penularan penyakit dapat terjadi melalui udara dan debu pada burung yang rentan (Yoder, 1984). Penyakit CRD akan lebih cepat terjadi bila daya tahan dan kondisi tubuh menurun, faktor-faktor yang menyebabkan antara lain jumlah populasi ayam yang terlalu banyak dalam kandang yang sempit,

setelah vaksinasi dan adanya infeksi penyakit lain seperti NCD, Infectious Bronchitis, Colli bacillosis, Coryza dan sebagainya. Bila terjadi komplikasi dapat menyebabkan kematian hewan yang cukup tinggi yaitu 80 % (Hungerford , 1969).

5. Diagnosa.

Diagnosa terhadap CRD pada ayam secara tepat didasarkan atas: Gejala klinis, Perubahan patologi anatomis dan pemeriksaan laboratoris.

5.1. Gejala Klinis.

CRD umumnya menyerang ayam umur 4 - 8 minggu, tanda-tanda klinisnya sebagai berikut : batuk, bersin, bulu berdiri dan pertumbuhan terhambat. Tanda-tanda klinis lainnya adalah keluar discharge dari lubang hidung, adanya kebengkakan rongga kepala, ayam menggeleng-gelengkan kepalanya, terdengar suara meninggi pada waktu bernafas, berat badan menurun, adanya oedema pada kulit kepala , conjungtivitis, kelopak mata bawah membengkak (Yoder, 1984) Selain itu ayam tidak ada nafsu makan dan lemah, kurus, pada ayam petelur dapat terjadi penurunan hingga 50 % dan dapat berjalan lama sedangkan pada ayam pedaging yang terserang penyakit ini terjadi pertumbuhan yang tidak diinginkan sehingga pemasarannya sangat tidak sesuai dengan jumlah makanan yang dihabiskan (Kuryana, 1978 ; Poernomo, 1980 ; Ressayang, 1983 ; Yoder, 1984). Pada pemeriksaan serologis

dalam suatu kelompok ayam kadang-kadang menunjukkan reaksi positif, akan tetapi ayam tersebut tidak memperlihatkan gejala apapun, terutama apabila infeksi penyakit ini terjadi pada umur muda dan sebagian sudah mengalami kesembuhan (Rumawas, 1976).

5.2. Perubahan Patologi Anatomis.

Perubahan patologi anatomis pada CRD yang disebabkan *Mycoplasma gallisepticum* baik pada ayam dewasa atau pada anak ayam yang terserang CRD adalah : radang kataral mulai dari rongga hidung, sinus sampai kantong udara. Kantong udara akan terlihat keruh dan bereksudat kataral. Perubahan pasca mati yang karakteristik pada CRD ialah : sinusitis dan air sacculitis. Keadaan air sacculitis ini menurut Yoder (1984) menyebabkan ayam tersebut harus diafkir waktu pemotongan, karena tidak layak untuk dikonsumsi. Bila keadaan ini menjadi lebih parah dan meluas, pada kantong hawa terjadi perkejuan yang menebal juga terlihat juga terlihat radang fibrin purulent, dapat juga terjadi perihepatitis fibrinosa serta radang saluran telur (Gordon dan Jordan, 1982 ; Hungerford, 1969 ; Ressay, 1983).

Menurut Kuryana (1978) Mycoplasmosis sub klinis pada anak-anak ayam tidak terlihat adanya tanda-tanda tracheitis dan sinusitis. Biasanya hanya terjadi perubahan ringan pada kantong udara dengan dindingnya memperlihatkan

bintik-bintik penebalan. Pada trachea terdapat lendir berwarna kotor tanpa darah, terlihat juga adanya oedema paru-paru dan abdominal menjadi besar serta bintik-bintik merah.

Secara histologi perubahan yang terjadi adanya penebalan pada selaput lendir sinus, paru-paru dan didalam hati yang terserang, disebabkan adanya infiltrasi oleh sel mononuclear dan hiperplasi pada kelenjar mukosa, serta terlihat gambaran reaksi limphofolikuler pada jaringan sub mukosa merupakan tanda spesifik dari CRD. Pneumonia secara lokal dan granuloma pada paru-paru sering juga ditemukan (Ginting, 1984 ; Rumawas, 1976).

5.3. Pemeriksaan Laboratorium secara bakteriologis.

Untuk kepastian diagnosa penyakit CRD dapat dilakukan pemeriksaan laboratorium yang meliputi isolasi dan identifikasi kuman penyebabnya serta uji serologis dan biologis.

Pada isolasi dan identifikasi digunakan cotton swab steril yang diusapkan pada rongga hidung, trachea dan kantong udara kemudian dimasukkan pada PBS steril. Selanjutnya suspensi, eksudat atau cairan dari alat-alat pernafasan dibiakkan pada media PPLD padat dan diinkubasikan pada 37⁰ C selama 3 sampai 10 hari. Koloni kuman Mycoplasma tampak mengkilat licin, bulat dengan daerah pusat meninggi. Kuman ini tumbuh pada media yang mengandung darah atau serum darah, pada kondisi aerob maupun anaerob dan bersifat non

motil. Kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan mikrobiologis dimana ada beberapa cara pewarnaan dapat dilakukan untuk menentukan sifat dan bentuk kuman penyebab penyakit, yaitu dengan pewarnaan Gram dan Giemsa. Pewarnaan Gram suatu pewarnaan untuk menentukan sifat kuman penyebab penyakit sedangkan pewarnaan Giemsa suatu pewarnaan untuk melihat bentuk kuman penyebab penyakit (Hungerford, 1969 ; Rumawas, 1976 ; Yoder, 1984).

Untuk uji biologis, cairan atau eksudat dari rongga hidung yang diambil secara steril kemudian diinokulasikan kedalam kantong kuning telur dari telur ayam bertunas umur 7 hari dan embryo akan mati pada hari ke 5 sampai ke 8. Sedangkan uji serologis dapat dilakukan dengan cara Haemagglutination Inhibition (HI), Aglutinasi serum atau Rapid Agglutination Plate (RAP), Agar Gel Precipitation Test (AGPT), yang paling sering digunakan dilapangan adalah RAP (Anonymous, 1981 ; Rumawas, 1976).

6. Diagnosa Banding.

Mengingat tanda-tanda klinis penyakit pernafasan pada ayam umumnya mirip satu sama lain, maka perlu diperhatikan beberapa penyakit yang secara klinis mempunyai gambaran yang sama. Adapun penyakit pernafasan yang tanda-tanda klinisnya tidak jauh berbeda adalah : New Castle Disease (NCD), Coryza , Fowl Cholera dan Infectious Bronchitis sehingga untuk memudahkan diagnosa dapat dikemukakan

beberapa pedoman yaitu :

6.1. New Castle Disease (NCD).

NCD merupakan penyakit pernafasan pada ayam yang disebabkan virus, dimana gambaran klinisnya hampir sama dengan CRD. Tanda-tanda klinis pada ayam yang menderita NCD ialah sering bersin, batuk yang keras dan sesak nafas. Tanda klinis yang menyolok pada penyakit ini yaitu adanya diarehe terus menerus berwarna kehijau-hijauan serta kadang kadang bercampur darah sehingga ayam mengalami dehidrasi, hal ini tidak dijumpai pada CRD. Pada pemeriksaan pasca mati pada NCD ditemui adanya perdarahan epikard, perikard dan proventrikulus dan yang paling khas adanya bintik darah pada caeca tonsil. Mortalitas yang disebabkan NCD ini bisa mencapai 90 %. (Hofstad, 1984).

6.2. Koryza (Snot).

Untuk membedakan antara CRD dan Infectious Coryza secara klinis sulit, karena mempunyai tanda-tanda yang mirip yaitu dijumpai adanya cairan yang keluar dari lubang hidung yang mula-mula encer dan jernih kemudian berubah menjadi kental dan kadang-kadang bercampur darah, akibatnya ayam tersebut mengalami kesulitan bernafas. Akan tetapi CRD lebih sering menyerang ayam umur 6-8 minggu sedangkan Infectious Coryza dapat menyerang ayam semua umur dimana penyakit ini tampak parah bila menyerang ayam umur 4 bulan keatas. Untuk mengetahui perbedaan yang pasti harus dilakukan isolasi dan identifikasi kuman penyebabnya

(Hungerford, 1969 ; Kuryana, 1978 ; Poernomo, 1975).

6.3. Infectious Bronchitis.

Penyakit ini disebabkan oleh virus dengan gejala klinis sesak nafas, pengeluaran cairan radang dari lubang hidung dan kebengkakan pada kepala. Selain itu Infectious Bronchitis akan memperlihatkan kelainan pada bentuk telur yang tidak beraturan, kerabang kasar atau lunak, dan bila telur dipecah maka putih telur akan encer. Keadaan ini tidak dijumpai pada ayam yang menderita CRD. Secara klinis Infectious Bronchitis sulit dibedakan dengan CRD, maka satu-satunya jalan yang dapat dilakukan adalah dengan pemeriksaan laboratorium (Rumawas, 1978).

6.4. Fowl Cholera.

Fowl Cholera merupakan penyakit bakterial yang disebabkan oleh *Pasteurella multocida*. Fowl Cholera tanda-tanda penyakitnya mirip dengan CRD ayam, yaitu adanya kelemahan, diare, nafsu makan berkurang dan kesulitan bernafas. Pada pemeriksaan pasca mati ditemukan perdarahan pada jantung, hati dan usus. Didalam rongga perut bisa dijumpai adanya kuning telur yang pecah, hal ini tidak dijumpai pada CRD. Untuk kepastian diagnosa Fowl Cholera hanya dapat dilakukan isolasi dan identifikasi kuman penyebabnya (Hungerford, 1969 ; Siegmund, 1979).

7. Penanggulangan Penyakit.

Dalam melakukan penanggulangan terhadap serangan

penyakit Mycoplasmosis pada suatu peternakan, peternak dapat melakukan beberapa tindakan yaitu, pencegahan, pengendalian dan pengobatan.

7.1. Pencegahan.

Tindakan pencegahan penyakit pernafasan menahun pada ayam secara teratur adalah lebih penting daripada mengadakan dengan pengobatan. Cara pencegahan dapat ditempuh dengan usaha pengelolaan peternakan yang baik dengan memperhatikan syarat-syarat kesehatan seperti, harus cukup sinar matahari, sistem pertukaran udara harus baik, litter harus kering dan tidak menggumpal, kotoran ayam jangan dibiarkan menumpuk agar tidak berbau amoniak disekitar kandang, memusnahkan sampah-sampah yang dapat bertindak sebagai sumber infeksi, makanan dan minuman yang bersih, cara pemeliharaan yang baik, mendisinfeksi kandang, mengosongkan kandang selama satu minggu sebelum kandang tersebut dipakai lagi dan populasi ayam disesuaikan dengan luas kandang. (Kuryana, 1978 ; Partadiredja, 1981 ; Yamamoto, 1978 ; Yoder, 1984).

Isolasi ketat pada flock ternak akan menghindarkan penyebaran penyakit kekelompok yang masih sehat. Melakukan uji serologis secara berkala adalah suatu langkah pencegahan yang paling tepat bagi CRD. Dari uji serologis dapat diketahui reaktornya, sehingga dapat disingkirkan dan diberikan sertifikat bagi peternakan yang bebas reaktor (Yoder, 1984).

Bila ditemukan beberapa ayam positif terkena infeksi penyakit pernafasan dalam kandang breeding sebaiknya semua ayam dalam kandang tersebut disingkirkan supaya tidak menjadi sumber yang menghasilkan telur tetas yang mengandung benih-benih penyakit pernafasan menahun ini (Nugroho, 1981).

Langkah-langkah selanjutnya yang dilakukan peternak untuk menghindari terjadinya serangan penyakit saluran pernafasan dapat dibagi menjadi 2 tahap. Tahap pertama, pencegahan terhadap terjadinya serangan penyakit pernafasan secara umum meliputi (a) Pengontrolan terhadap kelembaban dan temperatur lingkungan. Kelembaban dan temperatur lingkungan yang tidak seperti biasanya akan menyebabkan daya tahan tubuh ayam menurun dan bibit penyakit akan berkembang biak. (b) Mengatasi gangguan lingkungan yang menyebabkan terjadinya stress, misal : perubahan musim. Tindakan yang dapat dilakukan untuk mengurangi stress yaitu dengan pemberian vitamin dan elektrolit. (c) Mencegah terjadinya infeksi sekunder dengan pemberian antibiotika berspektrum luas. (d) Menjaga kebersihan kandang dan alat-alat. (e) Membatasi tamu-tamu yang berkunjung ke peternakan. (f) Mencegah tikus dan burung liar masuk dalam kandang. (g) Pemberian makanan yang berkualitas baik. Selanjutnya pada tahap kedua pencegahan penyakit pernafasan secara khusus meliputi (a) Penularan penyakit CRD dapat terjadi

melalui telur yang dihasilkan oleh induk penderita. Tindakan pencegahannya dengan cara hanya membeli ayam umur sehari (DOC) pada pembibit yang telah berkwalitas baik. (b) Tindakan lain, mengusahakan ayam berada dalam satu kelompok umur yang sama, karena timbulnya penyakit ini sering diakibatkan oleh tercampurnya ayam dari berbagai umur dalam satu kelompok. (c) Pemusnahan ayam yang mati harus dilakukan dengan tungku pembakar bangkai (incinerator) dan penguburan yang dalam.

7.2. Pengendalian dan pemberantasan.

Mengingat bahwa penyebaran penyakit ini sudah begitu luas, sedangkan sumber penularan selalu ada, maka sangat susah atau tidak mungkin untuk menghilangkan penyakit ini dari tanah air kita. Satu-satunya jalan adalah bagaimana mengendalikan penyakit ini agar tidak merugikan peternakan yang sedang dikelola (Ronohardjo, 1979).

Pencegahan dengan jalan vaksinasi merupakan tindakan pencegahan yang sangat penting untuk mencegah timbulnya CRD. Program vaksinasi pada ayam pedaging dan ayam petelur ini dapat bermanfaat untuk melawan infeksi *Mycoplasma gallisepticum*. Dengan pemberian vaksin in aktif melalui lubang hidung pada ayam yang masih muda dapat memberikan perlindungan terhadap CRD dan ternyata ayam tersebut tidak menunjukkan gejala klinis selama periode bertelur (Gordon dan Jordan, 1982).

Pencegahan penyakit terhadap pembibitan anak ayam

yaitu : telur yang akan ditetaskan dihapus hamakan dengan pemanasan 100° F selama 2 menit kemudian pada suhu dingin (35° - 40° F) selama 2-3 menit. Selanjutnya direndam dalam larutan antibiotika terutama Tylosin atau Erytromycin selama 15 sampai 20 menit yang berguna untuk mencegah terjadinya penyebaran penyakit Mycoplasma yang berada pada telur yang dihasilkan dari induk ayam yang bertindak sebagai karrier (Yoder, 1980).

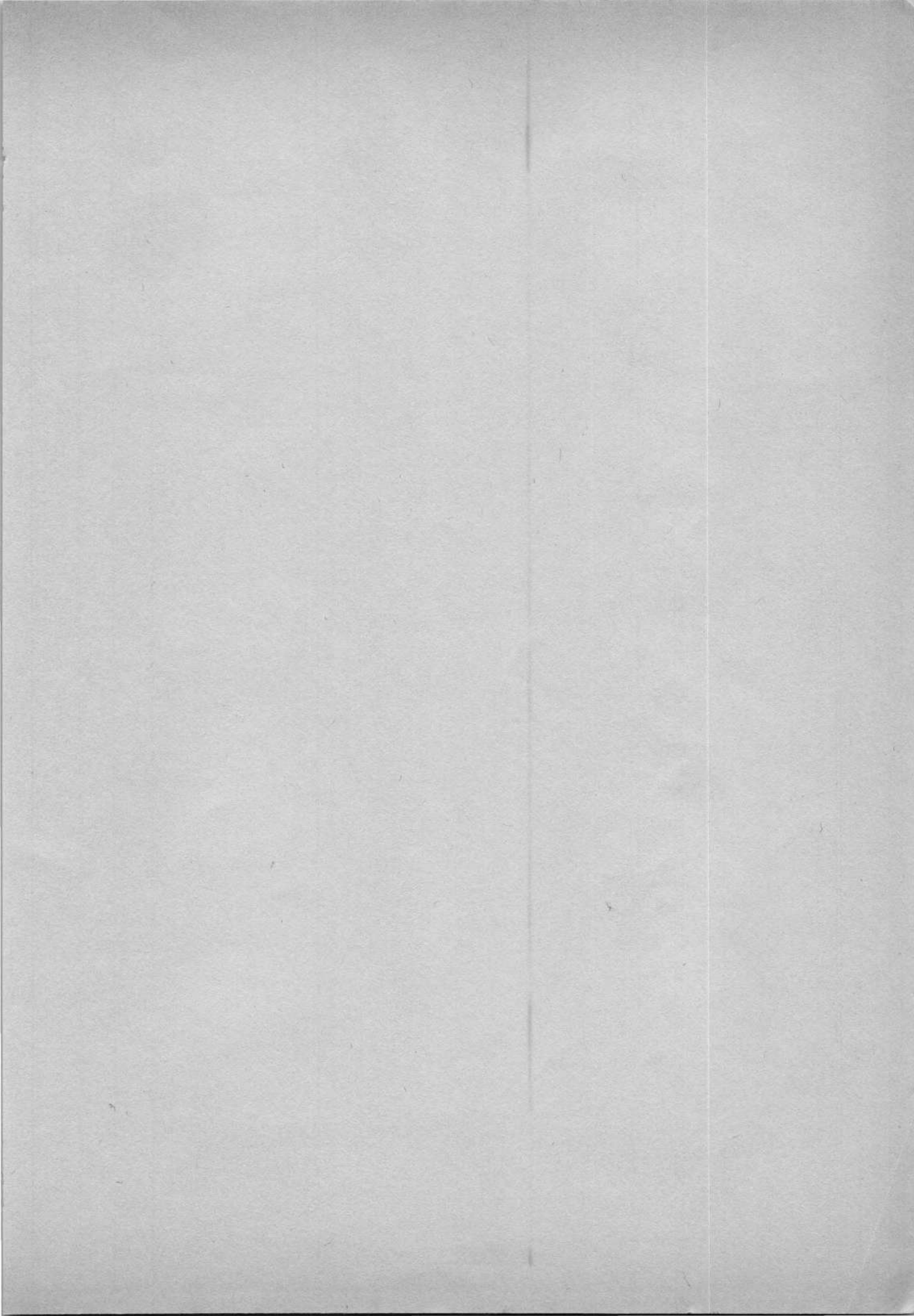
7.3. Pengobatan.

Apabila penyakit pernafasan yang disebabkan oleh Mycoplasma gallisepticum sudah menyerang ayam, maka pengobatan yang dapat diberikan adalah antibiotika. Oxy-tetracyclin atau Chlortetracyclin yang dikombinasikan dengan Tylosin yang dicampurkan dalam makanan sejumlah 200 gram per ton makanan cukup efektif untuk memberantas CRD dan diberikan mulai umur 1 hari sampai dengan minggu ke 2 atau ke 3. Dapat juga diberikan Tylosin secara injeksi dengan dosis 3 sampai 5 mgr per 0,5 kg berat badan atau dicampur dalam air minum selama 3 sampai 5 hari (Yoder, 1984).

Beberapa preparat antibiotika terutama broad spektrum yang diketahui berkhasiat untuk menyembuhkan Mycoplasmosis antara lain : Oxytetracyclin, misalnya Terramycin LA yang dapat diberikan secara sub kutan dengan dosis 50 mgr per kg berat badan secara nyata dapat mengurangi komplikasi Mycoplasmosis sekaligus mengurangi kematiannya, selain

itu preparat antibiotika lainnya yang cukup efektif yaitu Gentamycin, Streptomycin, Kanamycin, Spiramycin, Thiamulin (Anonymous, 1987 ; Harry and Yoder, 1984 ; Nugroho, 1981 ; Yamamoto and Adler, 1956).

Jika ayam-ayam dapat sembuh dari pengobatan dapat menjadi karier dengan tidak menunjukkan gejala klinis dan mengganggu respon kekebalan pada saat vaksinasi terhadap penyakit lainnya (Kuswanto , 1980).



BAHAN DAN METODE PENELITIAN

1. Tempat dan waktu penelitian.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. dimulai tanggal 28 November 1988 sampai 28 Januari 1989.

2. Bahan Penelitian.

2.1. Ayam.

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayam pedaging betina jenis CP 707 sebanyak 96 ekor diperoleh dari Ngagel Jaya Poultry Surabaya. Pada penelitian ini 60 ekor digunakan untuk perlakuan dan kontrol sedangkan 36 ekor untuk penentuan LD₅₀.

2.2. Vaksin.

Untuk vaksinasi terhadap *Mycoplasma gallisepticum* digunakan vaksin *Mycoplasma gallisepticum* buatan Eka Farma Semarang sebanyak 1 botol berisi 100 ml yang diperoleh dari Jaya Poultry.

2.3. Isolat Kuman.

Isolat kuman *Mycoplasma gallisepticum* diperoleh dari Pusvetma Surabaya yang digunakan untuk infeksi buatan dan penentuan LD₅₀.

2.4. Media.

Media yang digunakan untuk isolasi ialah Mycoplasma

Broth Base Agar dan untuk identifikasi digunakan media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) dan gula-gula antara lain Glukose, Maltose, Manose, Laktose, Galaktose dan Media Semi Solid (Indol).

2.5. Pakan Ayam.

Pakan ayam yang digunakan dalam penelitian ini adalah buatan Charoen Fokphand yang diperoleh dari Ngagel Jaya Poultry Surabaya.

3. Metode Penelitian.

3.1. Pemeriksaan Maternal Antibodi.

Semua ayam percobaan sebanyak 96 ekor tersebut dilakukan pemeriksaan maternal antibodi terhadap *Mycoplasma gallisepticum* pada umur 14 dan 27 hari secara Plate Aglutinasi, selanjutnya ayam-ayam tersebut dibagi menjadi dua yaitu 36 ekor digunakan untuk penentuan LD₅₀ dan 60 ekor untuk perlakuan dan kontrol.

3.2. Penentuan LD₅₀.

Sebelum melakukan penentuan LD₅₀ dari isolat *Mycoplasma gallisepticum* terhadap ayam percobaan, terlebih dahulu dilakukan penghitungan jumlah kuman. Mula-mula isolat dibiakkan pada media Mycoplasma Agar Base padat dan di streak secara rapat, setelah itu dipanen, selanjutnya dimasukkan pada media Mycoplasma Agar Base dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam, selanjutnya media Mycoplasma Agar Base tersebut diambil dan disimpan pada suhu 4⁰ C,

setelah itu kuman diambil dan dilakukan pengenceran secara seri dari 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} dan 10^{-10} . Dari pengenceran ini diambil 1 cc kemudian dimasukkan dalam cawan petri, kemudian dituangkan pada media Mycoplasma Agar Base dan dieramkan pada suhu 37° C selama 24 jam, setelah itu dihitung jumlah kuman yang tumbuh dan ternyata suspensi kuman tersebut mengandung rata-rata 10^5 per cc. Kemudian suspensi kuman ini digunakan untuk penentuan LD_{50} dan untuk infeksi buatan/ ujiantang. Selanjutnya dilakukan LD_{50} dengan menggunakan ayam umur 28 hari sebanyak 36 ekor yang dibagi secara acak menjadi 6 kelompok dimana tiap-tiap kelompok diinfeksi dengan suspensi kuman dari pengenceran 10^{-0} , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} sebanyak 0,1 cc secara intra nasal, kemudian diamati selama 14 hari.

3.3. Vaksinasi.

Setelah penentuan LD_{50} dilakukan ujiantang dengan menggunakan 60 ekor ayam dan dibagi menjadi 2 kelompok secara acak masing-masing 30 ekor untuk perlakuan (kelompok I) dan 30 ekor untuk kontrol (kelompok II). Pada kelompok I dilakukan vaksinasi terhadap Mycoplasma gallisepticum, sedang pada kelompok II tanpa vaksinasi. Pada minggu ke II setelah vaksinasi dilakukan infeksi buatan secara intra nasal dengan dosis LD_{50} pada kelompok I dan kelompok II masing-masing 10 ekor yang diambil secara acak, selanjutnya dilakukan pengamatan setiap hari

selama 14 hari setelah inokulasi. Infeksi buatan ini diulang pada minggu ke IV dan ke VI setelah vaksinasi dan setiap melakukan infeksi buatan diambil dari masing-masing kelompok. Ayam yang mati selama pengamatan dilakukan isolasi dan identifikasi terhadap *Mycoplasma gallisepticum* dan organ-organ respirasinya dibuat preparat histologis (lampiran 16).

3.4. Isolasi *Mycoplasma gallisepticum*

Isolasi kuman *Mycoplasma gallisepticum* diambil dari sinus nasalis kemudian dimasukkan pada Phospat Buffer Solutions steril dan selanjutnya ditanam pada media Mycoplasma Agar padat secara streak dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37⁰ C.

3.4.1. Pemeriksaan Natif.

Pemeriksaan natif adalah pemeriksaan kuman tanpa menggunakan zat warna, yang bertujuan untuk mengetahui gerakan kuman. Dengan ose steril diambil sedikit pupukan kemudian ditaruh pada gelas obyek yang sudah ditetesi Phospat Buffer Solutions (PBS) steril, kemudian dengan ose kuman tersebut diratakan lalu ditutup dengan gelas penutup kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 X.

3.4.2. Pewarnaan Sederhana.

Pewarnaan Sederhana dilakukan untuk mengetahui morfologi dari kuman. Kita ambil PBS steril dengan ose steril, kemudian ditetaskan pada gelas obyek, selanjutnya

dengan ose steril diambil sedikit pupukan kuman dan diratakan dengan tetesan PBS steril lalu difiksasi. Selanjutnya diwarnai dengan Methylen Blue selama 2 sampai 3 menit, kemudian dicuci dengan air kran dan dikeringkan dengan kertas saring, lalu diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 X.

3.4.3. Pewarnaan Gram.

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui kuman tersebut termasuk golongan Gram negatif atau Gram positif. Dengan ose steril diambil pupukan kuman, kemudian diratakan dengan gelas obyek yang sudah terlebih dahulu ditetesi dengan PBS steril, lalu difiksasi diatas api kemudian diwarnai dengan Carbol Gentian Violet selama 3 - 4 menit, selanjutnya ditetesi dengan lugol selama 1 menit, lalu dicuci dengan air kran, kemudian dilunturkan dengan alkohol aceton dan segera dicuci dengan air kran dan dikeringkan dengan kertas saring. Selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 X.

3.4.4. Uji Biokimiawi dan Gula-gula.

3.4.4.1. Triple Sugar Iron Agar.

Dilakukan untuk membedakan spesies bakteri Gram negatif ataupun Gram positif berdasarkan daya fermentasi terhadap Glukose, sukrose, laktose dan untuk mengetahui adanya sulfide. Dengan menggunakan needle, kuman dipupuk secara streak pada permukaan miring dan secara stab/tusuk pada bagian agar tegak, lalu diinkubasi selama 24 jam pada

suhu 37° C. Apabila terbentuk warna kuning berarti kuman memfermentasi glukose, laktose dan sukrose. Pembentukan gas CO_2 oleh kuman ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada media.

3.4.4.2. Uji Indol.

Uji Indol dilakukan untuk membedakan ada tidaknya pembentukan indol dari perombakan tryptophan oleh bakteri juga untuk menentukan motilitas dari bakteri. Kuman dipupuk dengan menggunakan needle secara stab/tusuk pada media indol yang semi solid kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Motilitas dari kuman ditandai dengan kekeruhan pada media indol seperti pohon cemara terbalik, bila kuman tidak motil ditandai dengan kekeruhan pada tempat tusukan, selanjutnya ditetesi dengan reagen Kovac, bila kuman membentuk indol ditandai dengan terbentuknya warna jingga.

3.4.4.3. Uji Gula-gula.

Media gula-gula dilakukan untuk memperlihatkan adanya fermentasi gula (glukosa, laktose, sukrose, dextrose, galaktose dan manitol) oleh kuman. Kuman dipupuk pada media gula-gula, lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Proses fermentasi terjadi bila terbentuk asam pada media, sehingga merubah indikator phenolphthalin dari merah menjadi kuning.

3.5. Penanganan sediaan histologis.

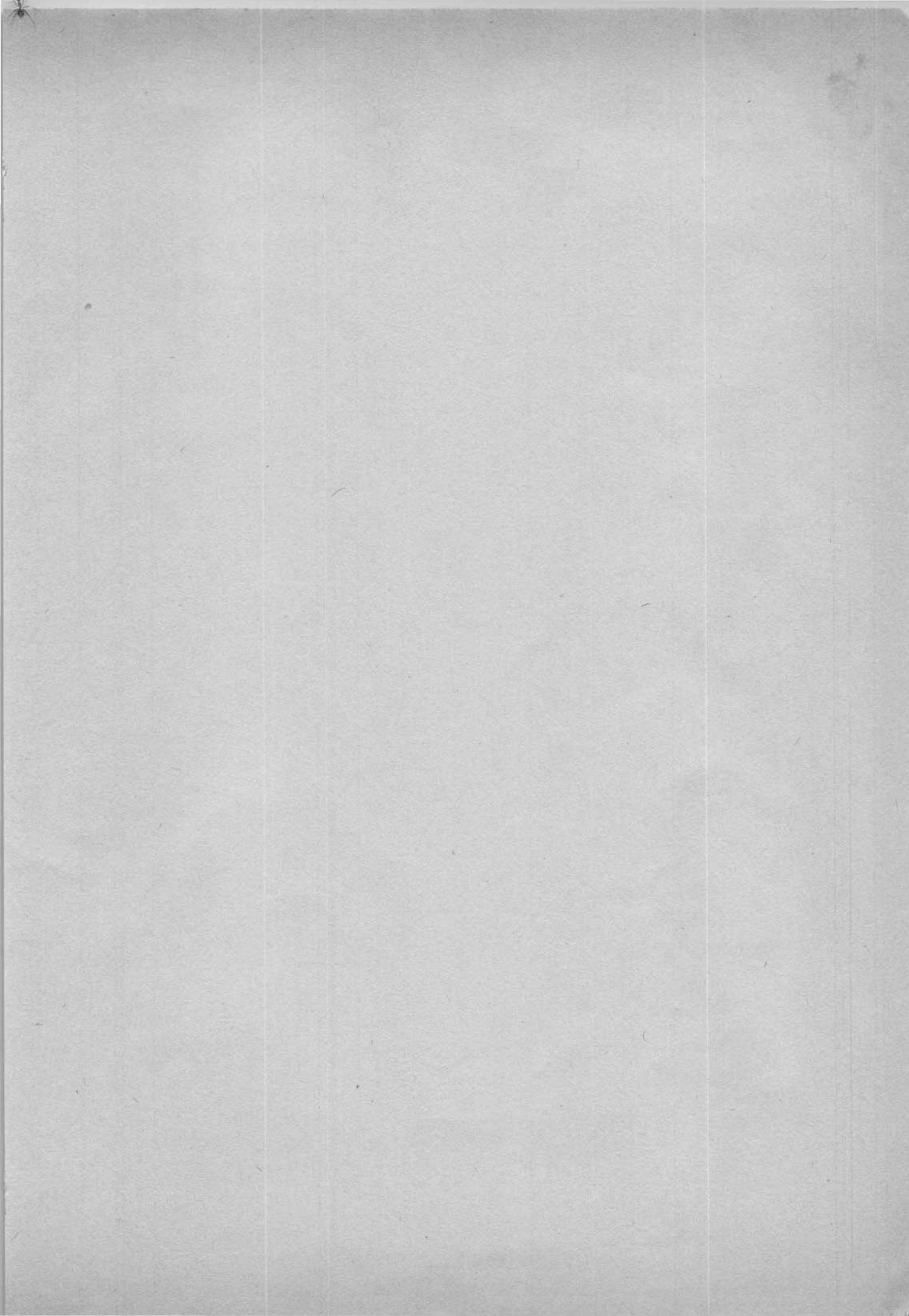
Dari ayam yang mati kemudian diambil organ-organ

respirasinya yaitu paru-paru, sinus, trachea serta organ organ lainnya yang mengalami perubahan kemudian dimasukkan dalam formalin buffer untuk selanjutnya dibuat preparat histologis (lampiran 16).

Pemeriksaan histologis dilakukan untuk melihat perubahan akibat infeksi Mycoplasma gallisepticum yaitu adanya penebalan pada selaput lendir sinus, paru-paru serta terlihat gambaran reaksi lymphofolikuler pada jaringan sub mukosa yang merupakan tanda spesifik dari CRD. Sedang pada pemeriksaan patologis anatomis terlihat radang kataral mulai dari rongga hidung sampai kantong udara dan pada kantong hawa terjadi perkejuan yang menebal.

3.6. Analisis Data.

Data penelitian diperoleh dengan jalan mencatat perubahan berat ringannya derajat kebengkakan pada berbagai organ yaitu paru, sinus dan trachea dari masing-masing kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, dari data-data yang telah dikumpulkan selanjutnya ditabulasi dan dianalisa dengan penghitungan berdasarkan persentase kemudian untuk mengetahui efek perlakuan, data dari masing-masing kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol digunakan uji Chi Kwadrat (Sudjana, 1982).



B A B IV

HASIL PENELITIAN

Hasil pemeriksaan terhadap penentuan LD₅₀ didapatkan hasil sebagai berikut, yaitu antara pengenceran 10⁻² dan 10⁻³ yaitu 60 % dan 27 % dengan kandungan kuman Mycoplasma gallisepticum per dosisnya 10^{2.305} ID₅₀ (Lampiran 3)

Dua minggu setelah vaksinasi dilakukan infeksi buatan dan diulang setiap 2 minggu sekali pada ayam kelompok perlakuan (dengan vaksinasi) dan kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) sebanyak 10 ekor setiap kelompok yang diambil secara acak dan selanjutnya diamati setiap hari selama 2 minggu.

Dari hasil pengamatan pada hewan percobaan tersebut didapatkan angka kematian pada hewan yang divaksin sebanyak 70 % pada minggu ke II setelah vaksinasi, 60 % pada minggu ke IV setelah vaksinasi dan 40 % pada minggu ke VI setelah vaksinasi, sedangkan pada kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) didapatkan angka kematian 80 % pada minggu ke II setelah vaksinasi, 80 % pada minggu ke IV setelah vaksinasi dan 70 % pada minggu ke VI setelah vaksinasi (Lampiran 1 - 2). Kemudian pada uji Chi Kwadrat (X²) perbedaan jumlah ayam yang mati pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol setelah infeksi buatan dengan Mycoplasma gallisepticum didapatkan hasil sebagai berikut, pada minggu ke II (X²) = 0, minggu ke IV (X²) = 0,2380 dan pada minggu ke VI (X²) = 0,8080 (Lampiran 4 - 6).

Dari hasil pemeriksaan secara mikroskopis dan pupukan pada semua ayam yang mati baik pada kelompok perlakuan maupun pada kelompok kontrol pada minggu ke II, IV dan VI menunjukkan bahwa semua ayam yang mati dapat diisolasi kuman *Mycoplasma gallisepticum* (100 %). (Lampiran 7 - 12).

Pada gambaran klinis sebelum hewan mengalami kematian nafsu makan menurun sehingga berat badan menurun dan menjadi lemah, adanya eksudat yang keluar dari rongga hidung, kemudian hewan menggoyang-goyangkan kepalanya, terdapat kebengkakan pada daerah mata, hewan terlihat batuk dan bersin dan nampak kesulitan bernafas dan terdengar suara ngorok.

Pada pemeriksaan pasca mati (PA) terlihat/nampak sarang-sarang perkejuan yang menebal, kantong udara terlihat keruh, sinusitis dan air sacculitis.

Selanjutnya dilakukan pemeriksaan mikroskopis/histologis dimana persentase kejadian derajat kebengkakan pada kelompok perlakuan (dengan vaksinasi) pada organ sinus yaitu 85,7 % pada minggu ke II setelah vaksinasi, 66,6 % pada minggu ke IV setelah vaksinasi dan 50 % pada minggu ke VI setelah vaksinasi. Selanjutnya pada organ paru yaitu 57,1 % pada minggu ke II setelah vaksinasi, 66,6 % pada minggu ke IV setelah vaksinasi dan 50 % pada minggu ke VI setelah vaksinasi dan pada organ trachea yaitu 71,4 % , 50 % dan 50 % masing-masing pada minggu ke II, IV dan VI

setelah vaksinasi. (Tabel 1 - 3 ; Gambar 1 - 6).

Kemudian pada kelompok kontrol hasil pemeriksaan histopatologis pada organ sinus, paru dan trachea pada minggu ke II, IV dan VI menunjukkan derajat kerusakan sebesar 100 % (Tabel 4 - 6). Kemudian pada uji Chi Kwadrat (χ^2) pada setiap kerusakan organ untuk masing-masing minggu antara kelompok perlakuan (dengan vaksinasi) dengan kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) didapatkan hasil sebagai berikut, pada minggu ke II (χ^2) = 0,2473 , minggu ke IV (χ^2) = 0,1262 dan pada minggu ke VI (χ^2) = 0 (Lampiran 13 - 15).

Tabel : 1.

Persentase kejadian derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang *Mycoplasma gallisepticum* pada kelompok perlakuan pada minggu ke II setelah vaksinasi.

Organ	Jml.yang diperiksa	Derajat kebengkakan					
		++	/	%	+	/	%
Sinus	7	6	/	85,7 %	1	/	14,4 %
Paru	7	4	/	57,1 %	3	/	42,9 %
Trachea	7	5	/	71,4 %	2	/	28,6 %

Keterangan :

++ : derajat kebengkakan berat.

+ : derajat kebengkakan ringan.

Tabel : 2

Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang *Mycoplasma gallisepticum* pada kelompok perlakuan pada minggu ke IV setelah vaksinasi.

Organ	Jml.yang diperiksa	Derajat kebengkakan	
		++ / %	+ / %
Sinus	6	4 / 66,6 %	2 / 33,3 %
Paru	6	4 / 66,6 %	2 / 33,3 %
Trachea	6	3 / 50 %	3 / 50 %

Keterangan :

++ : derajat kebengkakan berat.

+ : derajat kebengkakan ringan.

Tabel : 3

Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang *Mycoplasma gallisepticum* pada kelompok perlakuan pada minggu ke VI setelah vaksinasi.

Organ	Jml.yang diperiksa	Derajat kebengkakan	
		++ / %	+ / %
Sinus	4	2 / 50 %	2 / 50 %
Paru	4	2 / 50 %	2 / 50 %
Trachea	4	2 / 50 %	2 / 50 %

Keterangan :

++ : derajat kebengkakan berat.

+ : derajat kebengkakan ringan.

Tabel : 4

Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang *Mycoplasma gallisepticum* pada kelompok kontrol pada minggu ke II setelah vaksinasi.

Organ	Jml.yang diperiksa	Derajat kebengkakan	
		++ / %	+ / %
Sinus	8	8 / 100 %	0 / 0 %
Paru	8	8 / 100 %	0 / 0 %
Trachea	8	8 / 100 %	0 / 0 %

Keterangan :

++ : derajat kebengkakan berat.

+ : derajat kebengkakan ringan.

Tabel : 5

Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang *Mycoplasma gallisepticum* pada kelompok kontrol pada minggu ke IV setelah vaksinasi.

Organ	Jml.yang diperiksa	Derajat kebengkakan	
		++ / %	+ / %
Sinus	8	8 / 100 %	0 / 0 %
Paru	8	8 / 100 %	0 / 0 %
Trachea	8	8 / 100 %	0 / 0 %

Keterangan :

++ : derajat kebengkakan berat.

+ : derajat kebengkakan ringan.

Tabel : 6

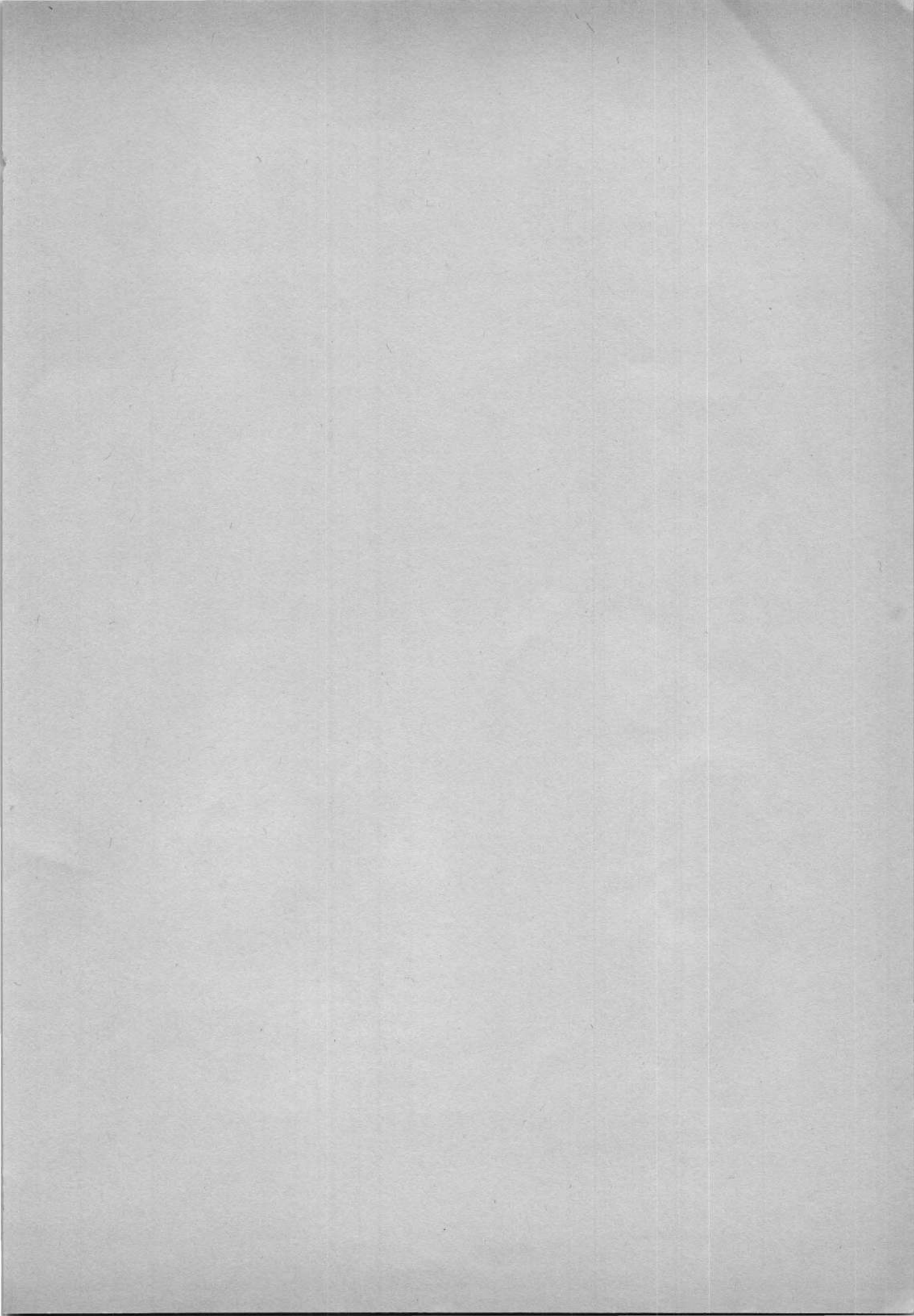
Persentase derajat kebengkakan pada organ-organ yang terserang *Mycoplasma gallisepticum* pada kelompok kontrol pada minggu ke VI setelah vaksinasi.

Organ	Jml.yang diperiksa	Derajat kebengkakan	
		++ / %	+ / %
Sinus	7	7 / 100 %	0 / 0 %
Paru	7	7 / 100 %	0 / 0 %
Trachea	7	7 / 100 %	0 / 0 %

Keterangan :

++ : derajat kebengkakan berat.

+ : derajat kebengkakan ringan.



B A B V

P E M B A H A S A N

Dari hasil penelitian pada infeksi buatan terhadap *Mycoplasma gallisepticum* dengan menggunakan uji Chi Kwadrat pada minggu ke II, IV dan VI setelah vaksinasi tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($P > 0,05$) antara kelompok perlakuan (dengan vaksinasi) dan kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) terhadap jumlah ayam yang hidup dan mati, hal ini disebabkan daya tahan tubuh ayam tidak mampu melawan terhadap serangan penyakit atau adanya gangguan terbentuknya kekebalan pada saat vaksinasi. Angka kematian yang tinggi ini dapat disebabkan juga saat dilakukan vaksinasi pada cuaca yang buruk atau pada saat musim penghujan, dimana pada saat penelitian dilakukan pada saat musim penghujan, yang akan menyebabkan semakin stress pada ayam tersebut. Selain itu dapat pula disebabkan kandungan isolat yang digunakan untuk vaksin berbeda dengan isolat yang digunakan untuk infeksi buatan, sehingga keganasan kedua isolat tersebut berbeda yang mengakibatkan ayam tersebut tidak mampu melawan infeksi penyakit, karena zat kebal/antibodi yang dihasilkan akibat vaksinasi tidak mampu melindungi terhadap infeksi *Mycoplasma gallisepticum*. Infeksi *Mycoplasma* dapat terjadi melalui saluran pernafasan atau melalui makanan atau minuman yang tercemar oleh *Mycoplasma*. Mekanisme infeksi

Mycoplasma pada saluran pernafasan mula-mula akan menekan aktivitas ciliary sehingga menimbulkan gangguan pada bulu getar, lemahnya gerak bulu getar saluran pernafasan mengakibatkan Mycoplasma gallisepticum dapat menempel pada saluran pernafasan dan akan memperbanyak diri. Selanjutnya setelah menempel pada saluran pernafasan akan mengadakan penetrasi pada sel epitel dan akan mengakibatkan kerusakan pada alat pernafasan (Cedric, 1979). Akibat kerusakan pada alat pernafasan dapat menimbulkan gejala klinis yaitu adanya batuk, bersin, keluarnya discharge dari lubang hidung, adanya kebengkakan rongga kepala, adanya oedema pada kulit kepala, kelopak mata bawah membengkak dan terdengar suara ngorok. Tanda-tanda klinis lainnya adalah bulu berdiri, pertumbuhan terhambat dan conjungtivitis.

Sedangkan kerusakan atau perubahan patologi anatomis yang nampak pada ayam dewasa maupun pada anak ayam yang terserang CRD adalah adanya radang kataral mulai dari rongga hidung, sinus sampai kantong udara. Pada kantong udara terlihat keruh bereksudat kataral. Perubahan pasca mati pada CRD yang karakteristik ialah sinusitis dan air sacculitis dan bila keadaan ini menjadi lebih parah dan meluas, pada kantong hawa terjadi perkejuan yang menebal juga terlihat radang fibrin purulent.

Secara histopatologis dari organ-organ yang terserang yaitu pada saluran pernafasan antara lain sinus, trachea

dan paru, hampir semuanya mengalami derajat kerusakan yang cukup berat baik pada kelompok perlakuan maupun pada kelompok kontrol. Derajat kerusakan tersebut ditandai dengan adanya penebalan selaput lendir sinus akibat adanya infiltrasi sel dan hiperplasi dari kelenjar mukosa serta terlihat gambaran reaksi limphofolikuler pada jaringan sub mukosa. Secara umum kelainan-kelainan yang nampak pada pemeriksaan histopatologis dengan penyakit pernafasan lainnya adalah hampir sama yaitu pada saluran pernafasan ditemukan penebalan dari mukosa sinus dan trachea yang disebabkan adanya oedema dan infiltrasi sel dan hiperplasia dari sel epitel.

Dalam penelitian ini persentase derajat kerusakan organ-organ sinus, paru dan trachea dari hasil pemeriksaan histopatologis pada kelompok perlakuan adalah sebagai berikut, yaitu organ sinus 85,7 %, 66,6 % dan 50 % masing-masing pada minggu ke II, IV, VI setelah vaksinasi, kemudian pada paru yaitu 57,1 %, 66,6 % dan 50 % pada minggu ke II, IV dan VI setelah vaksinasi. Pada trachea persentase derajat kerusakan masing-masing pada minggu ke II, IV dan VI setelah vaksinasi yaitu sebesar 71,4 %, 50 % dan 50 %. Sedangkan pada kelompok kontrol menunjukkan derajat kerusakan pada organ sinus, paru dan trachea baik pada minggu ke II, IV dan VI semuanya menunjukkan derajat kerusakan sebesar 100 %, hal ini disebabkan pada kelompok kontrol tidak dilakukan vaksinasi. Kemudian pada uji Chi

Kwadrat (χ^2) pada setiap perubahan/kerusakan organ untuk masing-masing minggu antara kelompok perlakuan (dengan vaksinasi) dengan kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($P > 0,05$) terhadap perbedaan derajat kerusakan organ-organ yang terserang *Mycoplasma gallisepticum* dalam hal ini organ sinus, paru dan trachea.

Gejala klinis, perubahan patologi anatomi dan histopatologis akibat *Mycoplasma gallisepticum* nampak mirip dengan penyakit pernafasan lainnya misalnya Newcastle Disease, Infectious Bronchitis, Koryza (Snot) dan Fowl Cholera dimana perubahan-perubahan yang nampak cukup bervariasi tergantung perjalanan penyakit, umur ayam, kepekaan ayam dan strain virus yang menularinya, demikian pula dengan derajat kematiannya cukup bervariasi, dimana pada Newcastle Disease menunjukkan angka kematian yang tinggi daripada penyakit pernafasan lainnya.

Gejala klinis yang nampak pada ayam yang terserang Newcastle disease adalah adanya diarehe yang kehijau-hijauan, adanya gangguan respirasi ditandai dengan pernafasan yang cepat, sesak nafas, batuk dan selanjutnya akan terlihat gejala syaraf yaitu torticollis, paralisa kaki dan sayap dan adanya kematian yang tinggi. Kelainan-kelainan yang nampak secara patologi anatomi bersifat pathognomonis dengan adanya bintik-bintik perdarahan pada mukosa proventrikulus disertai nekrose pada saluran pencernaan.

Pada ND type Amerika saluran pernafasan mengalami perubahan lebih hebat, dimana trachea dan larynx ditemukan eksudat yang bersifat serous dan kataral. Pada gangguan syaraf ditandai dengan adanya degenerasi dan nekrose didalam otak. Kemudian pada perubahan histopatologis pada ayam yang terserang ND nampak pada saluran pernafasan adanya oedema, pembendungan (congesti), infiltrasi sel-sel limphosit, makrophage banyak dijumpai dalam eksudat trachea, pada paru-paru terjadi perubahan proliferasif dan eksudatif sehingga dinding alveoli menebal karena hipertropi dan hiperplasi dari sel-selnya, kantong hawa menebal, oedema dan infiltrasi sel-sel radang.

Pada penyakit Koryza (Snot) gejala klinis yang nampak menyolok adalah adanya eksudat serous dari rongga hidung , ngorok karena kesulitan bernafas, oedema pada wajah dan conjungtivitis pada dan pada ayam jantan nampak pial membengkak. Kemudian pada kelainan patologi anatomis adalah adanya conjungtivitis kataralis, pada sinus adanya eksudat yang purulent dan adanya oedema pada muka dan pial. Pada perubahan histopatologis ayam yang terserang Koryza (Snot) nampak perubahan pada cavum nasalis, sinus infra orbitalis dan trachea, hiperplasi mukosa, oedema dan hiperemis dengan infiltrasi heterophyl dan tunika propria dari membrana mukosa. Terjadi peradangan yang kronis disertai eksudat yang mengeju pada sinus, lubang hidung dan kantong conjungtiva apabila penyakitnya berjalan lama

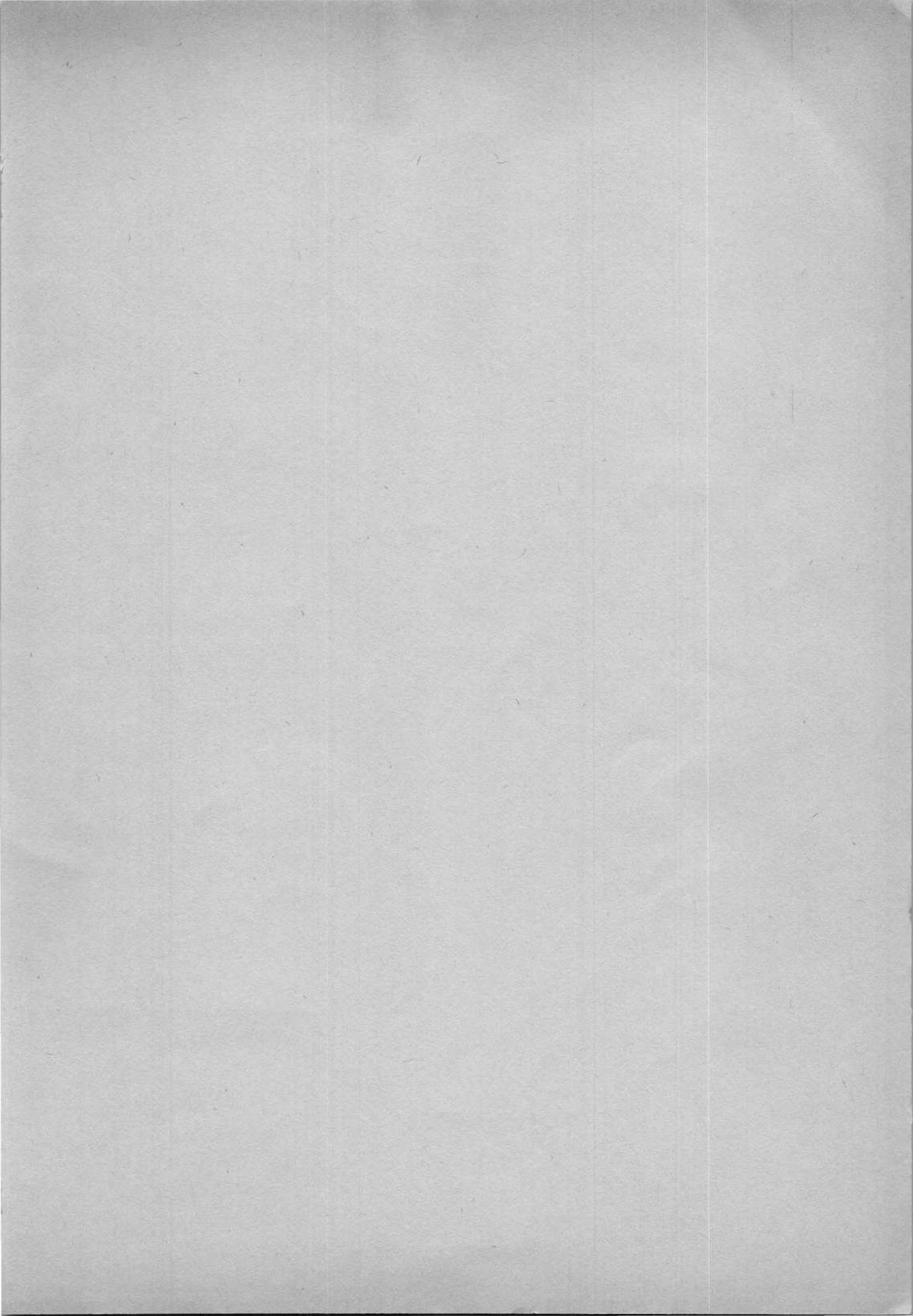
dan terdapat komplikasi dengan bakteri lainnya.

Tanda klinis pada penyakit Infectious Bronchitis pada keadaan akut tanda-tanda umum yang menyolok adalah hewan nampak lemah, lesu, sesak nafas, batuk, bersin, pernafasan berbunyi (ngorok), dari hidung keluar lendir, matanya basah (berair), sudut mata medial melebar dan selaput niktitan berwarna merah. Kemudian perubahan histopatologis pada ayam-ayam yang terinfeksi Infectious Bronchitis yaitu pada saluran pernafasan ditemukan penebalan mukosa trachea yang disebabkan oleh adanya oedema dan infiltrasi sel radang, juga sering ditemukan vacuolisasi dan hiperplasia dari sel epithel dan adanya perdarahan mukosa.

Dan selanjutnya tanda-tanda klinis pada ayam yang terserang Fowl Cholera, rongga hidung dan sinus infra orbitalis terlihat membengkak, disebabkan karena timbunan lendir didalamnya. Tanda-tanda peradangan bisa ditemukan pada hidung, sinus dan trachea. Selain itu bulu-bulu tampak kusam, tubuh gemetar, sayap menggantung dan kepala dilipat dibawah sayap. Perubahan patologi anatomis yang nampak yaitu berupa perdarahan, baik besar maupun kecil pada selaput serosa dan lemak perut mukosa usus, paru-paru serta organ-organ lain. Didalam rongga perut kadang-kadang dijumpai material kuning telur sebagai akibat pecahnya kantong kuning telur. Dan perubahan histopatologis pada ayam yang terserang Fowl Cholera adalah adanya cytoplasmik

inclusion bodies berwarna merah yang disebut Bollinger bodies dan dijumpai pada sel-sel yang hiperplasia.

Pada tahun 1983, Bozemen dkk, mengadakan percobaan yaitu dengan melakukan vaksinasi CRD pada ayam, kemudian dilakukan infeksi buatan dengan Mycoplasma gallisepticum, setelah 5 minggu ayam tersebut tidak mati dan tidak menunjukkan gejala klinis dari penyakit CRD. Akan tetapi dari hasil penelitian yang telah peneliti lakukan menunjukkan hal yang lain dari harapan, dimana ayam-ayam yang sudah divaksinasi masih dapat terserang penyakit CRD. Dengan demikian hasil penelitian ini berbeda/kontradiksi dengan yang telah dilakukan Bozemen dkk. Faktor-faktor yang menyebabkan kegagalan kekebalan pada ayam yang sudah divaksinasi dapat disebabkan oleh mutu vaksin yang kurang baik, atau karena kandungan isolat yang digunakan untuk infeksi buatan dengan yang digunakan untuk vaksin berbeda, selain itu dapat pula karena faktor kepekaan ayam, faktor kondisi lingkungan seperti suhu udara yang jelek dan kepadatan populasi serta dapat pula karena titer antibodi yang rendah, sehingga ayam yang sudah divaksin tidak mampu melawan terhadap infeksi atau tantangan terhadap penyakit.



B A B VI

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN :

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Tanda klinis atau perubahan yang nampak akibat infeksi *Mycoplasma gallisepticum* adalah adanya batuk, bersin, keluarnya discharge dari lubang hidung, terdengar suara ngorok pada waktu bernafas, kebengkakan pada rongga kepala, kelopak mata bawah membengkak serta pertumbuhan yang terhambat. Kelainan patologis yang nampak adalah adanya radang kataral pada hidung, sinus sampai kantong udara. Dan perubahan yang karakteristik adalah adanya sinusitis, air sacculitis dan kantong hawa terjadi perkejuan yang menebal juga terlihat radang fibrine purulent baik pada ayam yang telah divaksin ataupun pada yang tidak divaksin.

2. Pada pemeriksaan histopatologis terhadap penyakit CRD ternyata dapat dibedakan dengan penyakit pernafasan lainnya.

SARAN :

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diharapkan adanya :

1. Penelitian lain tentang penggunaan vaksin dengan strain yang berbeda dengan strain yang digunakan pada penelitian ini sehingga dapat diharapkan kekebalan yang

lebih sehingga tidak menimbulkan kerusakan-kerusakan.

2. Selama belum ada vaksin yang baik terhadap Mycoplasma gallisepticum, peternak juga diharapkan lebih memperhatikan terhadap sanitasi dan management peternakan dengan tidak melupakan tindakan-tindakan pencegahan lainnya agar usaha pencegahan dan pengobatan dapat berhasil dengan baik.

3. Untuk melakukan diagnosa penyakit pernafasan perlu dilakukan pemeriksaan gejala klinis, patologi anatomis dan histopatologis. Akan tetapi senantiasa tidak memberikan hasil yang memuaskan karena banyaknya persamaan dengan penyakit pernafasan lainnya. Oleh sebab itu untuk melakukan diagnosa secara tepat perlu dilakukan pemeriksaan laboratoris.

B A B V I I

R I N G K A S A N

Pengalaman menunjukkan bahwa penyakit alat pernafasan yang menyerang pada ayam pedaging khususnya penyakit CRD yang disebabkan oleh *Mycoplasma gallisepticum* seringkali berjangkit di peternakan ayam di Indonesia, hal ini merupakan hambatan yang cukup serius dalam produksi ternak unggas di Indonesia. Memang CRD angka kematiannya tidak tinggi, akan tetapi CRD lebih banyak merugikan peternak dari segi ekonomis.

Tujuan penelitian yang kami lakukan adalah untuk mengetahui gambaran klinis dan histopatologis pada ayam pedaging yang diinfeksi *Mycoplasma gallisepticum* setelah dilakukan vaksinasi.

Dalam penelitian ini digunakan 96 ekor ayam pedaging jenis CP 707, dimana 36 ekor ayam digunakan untuk penentuan LD₅₀ dan 60 ekor lagi dibagi menjadi 2 kelompok secara acak, masing-masing sebagai perlakuan (dengan vaksin) dan kelompok kontrol (tanpa vaksin). Kemudian dari masing-masing kelompok setiap 2 minggu diambil 10 ekor secara acak untuk infeksi buatan terhadap *Mycoplasma gallisepticum*.

Dari hasil pengamatan pada hewan percobaan tersebut didapatkan angka kematian pada hewan yang divaksin (perlakuan) yaitu 70 % , 60 % dan 40 % masing-masing pada minggu ke II, IV dan VI setelah vaksinasi, sedangkan

pada kelompok kontrol masing-masing 80 % , 80 % dan 70 % pada minggu ke II, IV dan VI setelah vaksinasi. Dengan uji Chi Kwadrat (χ^2) terhadap perbedaan jumlah ayam yang mati pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol setelah infeksi buatan tidak ada perbedaan yang bermakna ($P > 0,05$).

Pada pemeriksaan histopatologis / mikroskopis persentase derajat kebengkakan pada kelompok perlakuan pada organ sinus yaitu 85,7 % , 66,6 % dan 50 % masing-masing pada minggu ke II, IV dan VI setelah vaksinasi, kemudian pada paru yaitu 57,1 % , 66,6 % dan 50 % pada minggu ke II, IV dan VI setelah vaksinasi dan pada trachea yaitu 71,4 % , 50 % dan 50 % pada minggu ke II, IV dan VI setelah vaksinasi. Sedangkan pada kelompok kontrol pada semua organ menunjukkan derajat kerusakan sebesar 100 % pada minggu ke II, IV dan VI setelah vaksinasi.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa antara kelompok perlakuan (dengan vaksinasi) dengan kelompok kontrol (tanpa vaksinasi) tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ($P > 0,05$).

Gambar 1. Biakan *Mycoplasma gallisepticum* pada media Mycoplasma Agar Base.

Gambar 2. Adanya proses pengejuan yang menebal pada kantong hawa pada ayam yang diinfeksi *Mycoplasma gallisepticum*.

Gambar 3. Penebalan selaput lendir pada sinus ayam yang diinfeksi Mycoplasma gallisepticum (Pembesaran 10 X 5).

Gambar 4. Perubahan histopatologis pada paru ayam yang diinfeksi Mycoplasma gallisepticum (Pembesaran 10 X 5).

Gambar 5. Adanya sel-sel radang pada trachea ayam yang diinfeksi *Mycoplasma gallisepticum* .
(Pembedaan 10 X 10).

Gambar 6. Adanya sel-sel radang pada trachea ayam yang diinfeksi *Mycoplasma gallisepticum*
(Pembedaan 10 X 10).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 1981. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular, jilid II. Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jendral Peternakan Departemen Pertanian Jakarta. Hal. 30 - 35.
- Anonymous, 1984. Rencana Pembangunan Lima Tahun ke 4 1984/1985 - 1988/1989. Republik Indonesia. Hal. 385-417.
- Anonymous, 1985. Petunjuk Tehnis Peningkatan Usaha Ayam Pedaging. Direktorat Jendral Peternakan. Direktorat Usaha Tani Ternak dan Pengolahan Hasil Peternakan. Bagian Proyek Pembinaan Usaha Tani Ternak Unggas, Jakarta. Hal 49 - 50.
- Anonymous, 1987. Terramycin/LA untuk pengobatan CRD. Poultry Indonesia No. 93 th VIII, Jakarta Hal.27 - 28
- Anonymous, 1988. Akibat CRD keuntungan nyaris habis. Media Komunikasi Eurindo dengan peternak. Vol. 2 No. 2, Jakarta. Hal 5 - 11.
- Beard, C.W. 1980. Serologis Procedurs, isolation and identification of Avian Pathogens, 2nd ed. The American Association of Avian Pathologist. Hal. 129 - 130.
- Bozemen, L.H. ; Kleven, S.H and Davis, R.B, 1983. Mycoplasma challenge studies in budgerigars (*Melopsitacus undulatus*) and Chickens. Avian Disease. Vol.22 No.2; Hal. 428 - 301.
- Bruner, D.W ; Gillespie, 1971. Hagan's Infectious Diseases of Domestic Animals 6th ed .Cornell University Press Ithaca and London. Hal 523 - 525.
- Cedric, A.Mims, 1979. The Pathogenesis of Infectious Disease 3rd ed. Guy's Hospital School, London Bridge S.E.I. Hal. 7 - 14.
- Cowan, S.T dan Steel's, 1975. Manual for Identification of Medical Bacteria, 2nd ed. Cambridge University Press.
- Ginting, N, 1984. Penyakit Cacar dan CRD. Poultry Indonesia. No. 53 th. V , Jakarta. Hal. 12 - 13.

- Gordon, R.F. and Jordan, F.T.W , 1982. Poultry Disease 2nd ed. Angus and Robertson, Sidney, London, Melbourne. Hal 62 - 66.
- Grumble, L.C ; Boney, JR, WA and Delaplene, JP. , 1952 Spread of Infectious sinusitis of Turkey to Chickens by Natural Means. Poultry Sci. Vol. 31 , No. 5.
- Hidayat, B, 1987. Penyakit Saluran Pernafasan pada Ayam Pedaging. Poultry Indonesia No.90 Th. VIII, Jakarta Hal. 8.
- Hofstad, M.S ; Calnek, B.W ; Helmboldt, C.P ; Reid, W.M. ; Yoder, 1984. Disease of Poultry. 8th ed. The U.S.A. Hal. 282 - 284.
- Hungerford, T.G, 1969. Disease of Poultry, 4th ed. Cage bird and pigeons. Angus Robertson, Sidney, London Melbourne, Hal. 162 - 173.
- Kuryana. R, 1978. Penyakit Chronic Respiratory Disease pada ayam. Media Veteriner No.3, Th. III.
- Kuswanto, 1980. Apa kesalahan peternak sehingga penyakit CRD muncul. Poultry Indonesia no. 13 Th. II, Jakarta Hal. 10 - 13.
- Merchant, I.A and Parker, R.A , 1965. Veteriner Bacteriology and Virology, 6th ed, The Iowa State University Ames. Iowa, hal. 656 - 659.
- Nugroho, 1981. Chronic Respiratory Disease Penyakit Ayam di Indonesia, jilid I, Semarang, Hal. 73 - 79.
- Partadiredja, M ; Poernomo, C.S.U ; Sujudono, R.D ; Pasaribu, F.H ; Siregar, A.G.A ; Wibowomukti, P.S. ; Yuniman, B, 1981. Metode Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Pernafasan pada Ayam. Departemen IPHK bidang Veteriner Fakultas Kedokteran Veteriner Institut Peternakan Bogor.
- Poernomo, S, 1980. Mycoplasmosis pada Ayam di Indonesia Studi tentang pengasingan Mycoplasma species dari Ayam Ras. Bull. LPPH, Vol. XII, No. 20.
- Poernomo, S, 1980. Mycoplasmosis pada Ayam di Indonesia Isolasi Mycoplasma gallisepticum dari anak ayam broiler. Bull. LPPH. Vol. XIII, No. 20.
- Ressang, A.A, 1984. Patologi Khusus Veteriner, 2nd ed. Departemen Urusan Research Nasional Republik

Indonesia. Hal. 581 - 582.

Rumawas, W, 1976. Patologi Unggas, Penyakit Menular dan Kekurangan Gizi pada unggas, Bagian Patologi Fakultas Kedokteran Hewan I.P.B. Departemen Pertanian, Jakarta Hal. 167 - 172.

Ronohardjo, P, 1979. Masalah Mycoplasmosis atau CRD di Indonesia. Ayam dan telur No. 47 Th. VII. Jakarta, Hal. 16 - 17.

Seneviratna, P, 1969. Disease of Poultry, 2nd ed. Bristol John Wright and Sons Ltd, Hal. 63 - 65.

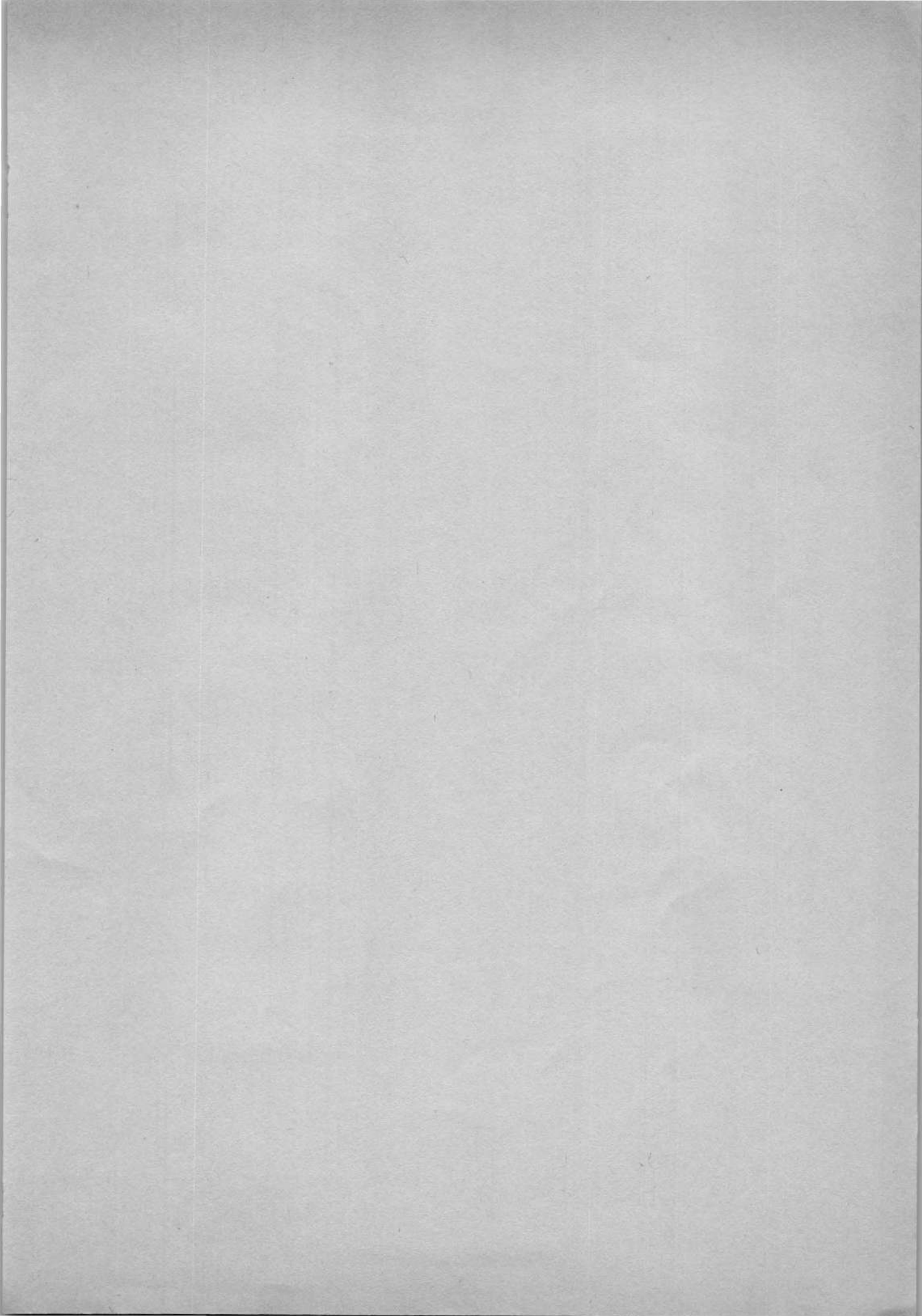
Siegmund, O.H, dkk, 1979. The Merck Veterinary Manual 5th ed. Merck and Co, Inc, Rahway, N.J , U.S.A. Hal. 1062 - 1063.

Sudjana, 1982. Disain dan Analisis Eksperimen. Penerbit Tarsito Bandung.

Yamamoto, R and Adler, H.T, 1956. Preparation of New PPLD antigen for the Diagnosa of Chronic Respiratory Disease by Agglutination Test, Am. J. vet. Res, Vol 17 Hal. 290 - 293.

Yoder, H.W, 1980. Mycoplasmosis, 2nd ed. The American Association of Avian Pathologist, Hal. 40 - 41.

Yoder, H.W, 1984, In Hofstad , 1984. Disease of Poultry 8th ed. Mycoplasma gallisepticum infection, U.S.A. Southeast Poultry Research Laboratory Athens Georgia, Hal. 282 - 301.



Lampiran 1.

Hasil uji tantang dari ayam yang mati pada kelompok perlakuan

Nomer sampel	Ayam yg.ditantang pd.minggu ke		
	II	IV	VI
1.	+	-	+
2.	-	-	-
3.	-	+	+
4.	+	+	+
5.	-	+	-
6.	+	+	-
7.	+	-	+
8.	+	+	-
9.	+	-	-
10.	+	+	-
Jumlah :	7	6	4

Keterangan :

+ : Ayam yang mati.

- : Ayam yang hidup.

Persentase hasil uji tantang dari ayam yang mati pada kelompok perlakuan.

$$\text{Minggu ke II} = 7/10 \times 100 \% = 70 \%$$

$$\text{Minggu ke IV} = 6/10 \times 100 \% = 60 \%$$

$$\text{Minggu ke VI} = 4/10 \times 100 \% = 40 \%$$

Lampiran 2.

Hasil uji tantang dari ayam yang mati pada kelompok kontrol.

Nomer sampel	Ayam yg.ditantang pd.minggu ke		
	II	IV	VI
1.	+	+	-
2.	+	-	+
3.	+	+	-
4.	+	+	+
5.	+	+	+
6.	-	-	+
7.	+	+	+
8.	-	+	-
9.	+	+	+
10.	+	+	+
Jumlah :	8	8	7

Keterangan :

+ : Ayam yang mati

- : Ayam yang hidup

Persentase hasil uji tantang dari ayam yang mati pada kelompok kontrol.

$$\text{Minggu ke II} = 8/10 \times 100 \% = 80 \%$$

$$\text{Minggu ke IV} = 8/10 \times 100 \% = 80 \%$$

$$\text{Minggu ke VI} = 7/10 \times 100 \% = 70 \%$$

Lampiran 3.

Kandungan kuman dari isolat Mycoplasma gallisepticum yang diperoleh dari Vetma pada penentuan LD₅₀ .

Pengenceran	Hasil individu		Hasil kumulatif		Persentase
	hidup	mati	Hidup	mati	
10 ⁻⁰	0	6	0	17	100
10 ⁻¹	1	5	1	11	91,76
10 ⁻²	3	3	4	6	60
10 ⁻³	4	2	8	3	27,27
10 ⁻⁴	5	1	13	1	7,14
10 ⁻⁵	6	0	19	0	0

$$PD = \frac{50\% - \% \text{ kematian tepat dibawah } 50\%}{\% \text{ kematian tepat diatas } 50\% - \% \text{ kematian tepat dibawah } 50\% .}$$

$$= \frac{50 - 27,27}{60 - 27,27} = 0,695.$$

Pengenceran 50 % endpoint = 10^{-2,305}

Kandungan kuman Mycoplasma gallisepticum per 0,1 cc = 10^{2,305} ID₅₀.

Jadi kandungan kuman Mycoplasma gallisepticum per dosisnya adalah 10^{2,305} ID₅₀.

Lampiran 4

Perbedaan antara ayam yang hidup dari kelompok perlakuan dan kontrol setelah uji tantang dengan menggunakan Chi Kwadrat (χ^2) pada minggu ke II.

Minggu ke II	Ayam yang mati	Ayam yang hidup	Jumlah
Perlakuan	7 (a)	3 (b)	10
Kontrol	8 (c)	2 (d)	10
Jumlah	15	5	20

$$\chi^2 = \frac{n \{ (ad - bc) - 1/2 (n) \}^2}{(a + b)(a + c)(b + c)(c + d)}$$

$$= \frac{20 \{ (7 \cdot 2 - 3 \cdot 8) - 1/2 (20) \}^2}{(7 + 3)(7 + 8)(3 + 2)(8 + 2)}$$

$$= \frac{20 \{ (14 - 24) - 10 \}^2}{10 \cdot 15 \cdot 5 \cdot 10}$$

$$= \frac{20 \{ -10 - 10 \}^2}{7500} = \frac{20 \cdot 400}{7500} = \frac{8000}{7500} = 1,066$$

$$\chi^2 = 1,066$$

Kesimpulan :

Tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok dan kelompok kontrol setelah uji tantang dengan *Mycoplasma gallisepticum* ($P > 0,05$).

Lampiran 5

Perbedaan antara ayam yang hidup dari kelompok kontrol dan kontrol setelah uji tantang dengan menggunakan Chi Kwadrat (χ^2) pada minggu ke IV.

Minggu ke IV	Ayam yang mati	Ayam yang hidup	Jumlah
Perlakuan	6 (a)	4 (b)	10
Kontrol	8 (c)	2 (d)	10
Jumlah	14	6	20

$$\chi^2 = \frac{n \{ (a.d - b.c) - 1/2 (n) \}^2}{(a + b) (a + c) (b + c) (c + d)}$$

$$\chi^2 = \frac{20 \{ (12 - 32) - 10 \}^2}{10 . 14 . 6 . 10}$$

$$= \frac{20 (- 30)^2}{8400} = \frac{18000}{8400} = 2,142$$

χ^2 hitung < χ^2 tabel.

$$2,142 < 5,99$$

χ^2 hitung < dari $\chi^2_{0,05}$ dan $\chi^2_{0,01}$

Kesimpulan :

Tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol setelah uji tantang dengan *Mycoplasma gallisepticum* ($P > 0,05$).

Lampiran 6

Perbedaan antara ayam yang hidup dari kelompok perlakuan dan kontrol setelah ujiantang dengan menggunakan Chi Kwadrat (χ^2) pada minggu ke VI.

Minggu ke VI	Ayam yang mati	Ayam yang hidup	Jumlah
Perlakuan	4 (a)	6 (b)	10
Kontrol	8 (c)	2 (d)	10
Jumlah	12	8	20

$$\begin{aligned} \chi^2 &= \frac{n \{ (a.d - b.c) - 1/2 (n) \}^2}{(a + b) (a + c) (b + c) (c + d)} \\ &= \frac{20 \{ (4.2 - 6.8) - 1/2 (20) \}^2}{(4 + 6) (4 + 8) (6 + 8) (8 + 2)} \\ &= \frac{20 \{ (8 - 48) - (10) \}^2}{10 . 12 . 14 . 10} \\ &= \frac{20 . \{ -50 \}^2}{16800} = \frac{50000}{16800} = 2,976 \end{aligned}$$

χ^2 hitung < χ^2 tabel

$$2,976 < 5,99$$

χ^2 hitung < dari $\chi^2_{0,05}$ dan $\chi^2_{0,01}$

Kesimpulan :

Tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol setelah ujiantang dengan *Mycoplasma gallisepticum* ($P > 0,05$).

Lampiran 7

Hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke ke II pada kelompok kontrol.

Nomer	Sifat Gram dan bentuk kuman	Pupukan pd. Agar	Sifat Koloni
1	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
2	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
3	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
4	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
5	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
7	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
9	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
10	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap

Keterangan :

- = Gram negatif.
- B.P = Batang Pendek.
- + = Tumbuh.

Persentase hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke II pada kelompok kontrol.

$$8/8 \times 100 \% = 100 \%$$

Lampiran 8

Hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke IV pada kelompok kontrol.

Nomer	Sifat Gram dan bentuk kuman	Pupukan pd. agar	Sifat Koloni
1	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
3	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
4	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
5	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
7	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
8	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
9	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
10	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap

Keterangan :

- : Gram negatif.
- B.P. : Batang Pendek.
- + : Tumbuh.

Persentase hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke IV pada kelompok kontrol.

$$8/8 \times 100 \% = 100 \%$$

Lampiran 9

Hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke ke VI pada kelompok kontrol.

Nomer	Sifat Gram dan bentuk kuman	Pupukan pd. agar	Sifat Koloni
2	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
4	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
5	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
6	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
7	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
9	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
10	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap

Keterangan :

- : Gram negatif
- B.P : Batang pendek
- + : Tumbuh

Persentase hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke VI pada kelompok kontrol.

$$7/7 \times 100 \% = 100 \%$$

Lampiran 10

Hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke II pada kelompok perlakuan.

Nomer	Sifat Gram dan bentuk kuman	Pupukan pd. agar	Sifat Koloni
1	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
4	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
6	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
7	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
8	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
9	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
10	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap

Keterangan :

- : Gram negatif.
- B.P. : Batang Pendek.
- + : Tumbuh.

Persentase hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke II pada kelompok perlakuan.

$$7/7 \times 100 \% = 100 \%$$

Lampiran 11

Hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke IV pada kelompok perlakuan.

Nomer	Sifat Gram dan bentuk kuman	Pupukan pd. agar	Sifat Koloni
3	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
4	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
5	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
6	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
8	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
10	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap

Keterangan :

- : Gram negatif.
- B.P. : Batang pendek.
- + : Tumbuh.

Persentase hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke IV pada kelompok perlakuan.

$$6/6 \times 100 \% = 100 \%$$

Lampiran 12

Hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke VI pada kelompok perlakuan.

Nomer	Sifat Gram dan bentuk kuman	Pupukan pd. agar	Sifat Koloni
1	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
3	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
4	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap
7	- , B.P.	+	kecil & tengah gelap

Keterangan :

- : Gram negatif
- B.P. : Batang Pendek
- + : Tumbuh.

Persentase hasil pemeriksaan mikroskopis dan pupukan pada minggu ke VI pada kelompok perlakuan.

$$4/4 \times 100 \% = 100 \%$$

Lampiran 13

Perbedaan derajat kerusakan organ-organ yang terserang *Mycoplasma gallisepticum* antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan menggunakan Chi Kwadrat (χ^2) pada minggu ke II.

Minggu II	Sinus	Paru	Trachea	Jumlah
Perlakuan	6 (5,38)	4 (4,61)	5 (5)	15
Kontrol	8 (8,61)	8 (7,38)	8 (8)	24
Jumlah	14	12	13	29

$$\chi^2 = \frac{(O - E)^2}{E}$$

$$= \frac{(6 - 5,38)^2}{5,38} + \frac{(4 - 4,61)^2}{4,61} + \frac{(5 - 5)^2}{5} + \frac{(8 - 8,61)^2}{8,61} + \frac{(8 - 7,38)^2}{7,38} + \frac{(8 - 8)^2}{8}$$

$$\chi^2 = 0,0714 + 0,0807 + 0 + 0,0432 + 0,0520 + 0$$

$$\chi^2 = 0,2463.$$

χ^2 hitung < χ^2 tabel

Kesimpulan :

Tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada perubahan organ-organ yang terserang *M.gallisepticum* ($P > 0,05$).

Lampiran 14

Perbedaan derajat kerusakan organ-organ yang terserang *Mycoplasma gallisepticum* antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan menggunakan Chi Kwadrat (χ^2) pada minggu ke IV.

Minggu IV	Sinus	Paru	Trachea	Jumlah
Perlakuan	4 (3,77)	4 (3,77)	3 (3,45)	11
Kontrol	8 (8,22)	8 (8,22)	8 (7,54)	24
Jumlah	12	12	11	35

$$\chi^2 = \frac{(O - E)^2}{E}$$

$$= \frac{(4 - 3,77)^2}{3,77} + \frac{(4 - 3,77)^2}{3,77} + \frac{(3 - 3,45)^2}{3,45} + \frac{(8 - 8,22)^2}{8,22} + \frac{(8 - 8,22)^2}{8,22} + \frac{(8 - 7,45)^2}{7,45}$$

$$\chi^2 = 0,014 + 0,014 + 0,0586 + 0,0058 + 0,0058 + 0,0280$$

$$\chi^2 = 0,1262.$$

χ^2 hitung < χ^2 tabel.

Kesimpulan :

Tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada perubahan organ-organ yang terserang *M.gallisepticum* ($P > 0,05$).

Lampiran 15

Perbedaan derajat kerusakan organ-organ yang terserang *Mycoplasma gallisepticum* antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan menggunakan Chi Kwadrat (χ^2) pada minggu ke VI.

Minggu VI	Sinus	Paru	Trachea	Jumlah
Perlakuan	2 (2)	2 (2)	2 (2)	6
Kontrol	7 (7)	7 (7)	7 (7)	21
Jumlah	9	9	9	27

$$\chi^2 = \frac{(O - E)^2}{E}$$

$$= \frac{(2 - 2)^2}{2} + \frac{(2 - 2)^2}{2} + \frac{(2 - 2)^2}{2} + \frac{(7 - 7)^2}{7} + \frac{(7 - 7)^2}{7} + \frac{(7 - 7)^2}{7}$$

$$\chi^2 = 0 + 0 + 0 + 0 + 0 + 0 = 0$$

$$\chi^2 \text{ hitung} = 0$$

Kesimpulan :

Tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada perubahan organ organ yang terserang *M.gallisepticum* ($P > 0,05$).

Lampiran 16.

Cara pembuatan preparat histologi

Fiksasi dan Pencucian.

Tujuan:

- mencegah terjadinya post mortem.
- mematikan kuman.
- meningkatkan afinitas jaringan terhadap zat warna
- memudahkan memotong jaringan.
- meningkatkan indeks refraksi berbagai komponen jaringan.

Reagen: Formalin 10 % .

Cara kerja :

Organ-organ respirasi yang telah diambil , dicuci dengan NaCl fisiologis, kemudian dimasukkan cairan formalin 10 % selama 48 jam. Selanjutnya dicuci dengan air kran.

Dehidrasi dan Clearing.

Tujuan:

Menarik air dari jaringan , membersihkan kotoran disekitar jaringan.

Reagen:

Alkohol 70 % , Alkohol 80 % , Alkohol 95 % , Alkohol 96 % , Alkohol Absolut I , II , III , Xylol I dan II

Cara kerja :

Memasukkan organ kedalam reagen dengan tahap sebagai berikut : alkohol 70 % , 80 % , 95 % , 96 % , Alkohol Absolut I , II , III , Xylol I dan II masing-masing selama 30 menit.

Infiltrasi.**Tujuan:**

Memudahkan jaringan menyerap cairan parafin.

Reagen:

Parafin I dan II

Cara kerja :

Memasukkan organ kedalam parafin cair I , kemudian dimasukkan oven selama 30 menit dan untuk selanjutnya dimasukkan parafin cair II pada temperatur 60° C.

Pembuatan parafin blok.**Tujuan:**

Mengeraskan jaringan agar mudah dipotong.

Reagen:

Parafin cair.

Cara kerja :

Menuangkan parafin cair kedalam cetakan dari besi dan diberi alas kaca, selanjutnya memasukkan organ kedalam parafin cair dengan pincet dan atur letaknya sesuai dengan penampang irisan yang diinginkan.

Pemotongan Organ.

Tujuan:

Memotong jaringan hingga tipis agar mudah menyerap warna dan pengamatan.

Alat :

Mikrotom.

Cara kerja :

Potong parafin blok hingga mendapat irisan tipis dan utuh, kemudian masukkan dalam water bath dengan temperatur 30⁰ C. Oleskan albumin pada bidang gelas obyek, ambil irisan jaringan dalam water bath dan letakkan pada bidang gelas obyek.

Pewarnaan.

Tujuan:

Memudahkan pengamatan. Pewarnaan menggunakan Haema - toksilin Eosin, yang memungkinkan melihat bentuk sel dengan sitoplasma berwarna merah dan inti sel berwarna biru.

Cara kerja :

Digunakan metode Harris. Jaringan yang telah kering masukkan dalam xylol I selama 30 menit, xylol II selama 1 menit, alkohol absolut I, II, alkohol 96 % 80 %, 70 % dan air kran selama 1 menit. Selanjutnya masukkan dalam zat warna Harris selama 5 - 10 menit air kran 2 - 3 menit, acid alkohol 3 - 10 celupan,

amoniak 6 X celupan , aquadest secukupnya, zat warna eosin 15 detik dan aquades lagi secukupnya selanjutnya masukkan dalam alkohol 70 %, 80 % masing-masing selama 30 detik, alkohol 96 %, alkohol absolut I, II selama 1 menit dan terakhir masukkan dalam xylol I , II masing-masing selama 1 - 2 menit. Bersihkan sisa-sisa pewarnaan yang tertinggal.

Mounting.

Penutupan preparat dengan gelas penutup. Selanjutnya preparat siap diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 100 X dan 400 X.

Lampiran 17.

1. Media Mycoplasma Broth Base Agar.

- Mycoplasma Broth Base	2.25	gr.
- Dextrose	1	gr.
- Yeast extract	0,5	gr.
- Tryptose pepton	1	gr.
- Serum babi	10 - 15	gr.
- Penicillin G	100	U / ml.
- Phenol Red	0,25	gr.
- Bacto agar	2	gr.
- Aquades	ad 100	ml.

2. Phospat Buffer Saline (PBS).

- Aquades	1000	ml.
- NaCl	8	gr.
- KCl	0,2	gr.
- Na ₂ HPO ₄	1,15	gr.
- KH ₂ PO ₄	0,2	gr.

Dikutip dari Yoder (1980).

Lampiran 18.

Nilai persentil untuk distribusi χ^2 .

ν	$\chi^2_{0,995}$	$\chi^2_{0,99}$	$\chi^2_{0,975}$	$\chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,90}$	$\chi^2_{0,75}$	$\chi^2_{0,50}$	$\chi^2_{0,25}$	$\chi^2_{0,10}$	$\chi^2_{0,05}$	$\chi^2_{0,025}$	$\chi^2_{0,01}$	$\chi^2_{0,005}$
1	7,89	6,63	5,02	3,84	2,71	1,32	0,455	0,102	0,016	0,004	0,001	0,0002	0,000
2	10,6	9,21	7,38	5,99	4,61	2,77	1,39	0,575	0,211	0,103	0,051	0,0201	0,010
3	12,8	11,3	9,35	7,81	6,25	4,11	2,37	1,21	0,584	0,352	0,216	0,115	0,072
4	14,9	13,3	11,1	9,49	7,78	5,39	3,36	1,92	1,06	0,711	0,484	0,297	0,207
5	16,7	15,1	12,8	11,1	9,24	6,63	4,35	2,67	1,61	1,15	0,631	0,354	0,412
6	18,5	16,8	14,4	12,6	10,6	7,84	5,35	3,45	2,20	1,64	1,24	0,872	0,676
7	20,3	18,5	16,0	14,1	12,0	9,04	6,35	4,25	2,83	2,17	1,69	1,24	0,989
8	22,0	20,1	17,5	15,5	13,4	10,2	7,34	5,07	3,49	2,73	2,15	1,65	1,34
9	23,6	21,7	19,0	16,9	14,7	11,4	8,34	5,90	4,17	3,33	2,70	2,09	1,73
10	25,2	23,2	20,5	18,3	16,0	12,5	9,34	6,74	4,87	3,94	3,25	2,56	2,16
11	26,8	24,7	21,9	19,7	17,3	13,7	10,3	7,58	5,58	4,57	3,52	3,05	2,60
12	28,3	26,2	23,3	21,0	18,5	14,8	11,3	8,44	6,30	5,23	4,40	3,57	3,07
13	29,8	27,7	24,7	22,4	19,8	16,0	12,3	9,30	7,04	5,89	5,01	4,11	3,57
14	31,3	29,1	26,1	23,7	21,1	17,1	13,3	10,2	7,79	6,57	5,63	4,56	4,07
15	32,8	30,6	27,5	25,0	22,3	18,2	14,3	11,0	8,55	7,26	6,26	5,23	4,60
16	34,3	32,0	28,8	26,3	23,5	19,4	15,3	11,9	9,31	7,96	6,91	5,81	5,14
17	35,7	33,4	30,2	27,6	24,8	20,5	16,3	12,8	10,1	8,67	7,56	6,41	5,70
18	37,2	34,8	31,5	28,9	26,0	21,6	17,3	13,7	10,9	9,39	8,23	7,01	6,26
19	38,6	36,2	32,9	30,1	27,2	22,7	18,3	14,6	11,7	10,1	8,91	7,63	6,84
20	40,0	37,6	34,2	31,4	28,4	23,8	19,3	15,5	12,4	10,9	9,59	8,26	7,43
21	41,4	38,9	35,5	32,7	29,6	24,9	20,3	16,3	13,2	11,6	10,3	8,90	8,03
22	42,8	40,3	36,8	33,9	30,8	26,0	21,3	17,2	14,0	12,3	11,0	9,54	8,64
23	44,2	41,6	38,1	35,2	32,0	27,1	22,3	18,1	14,8	13,1	11,7	10,2	9,26
24	45,6	43,0	39,4	36,4	33,2	28,2	23,3	19,0	15,7	13,8	12,4	10,9	9,89
25	46,9	44,3	40,6	37,7	34,4	29,3	24,3	19,9	16,5	14,6	13,1	11,5	10,5
26	48,3	45,6	41,9	38,9	35,6	30,4	25,3	20,8	17,3	15,4	13,8	12,2	11,2
27	49,6	47,0	43,2	40,1	36,7	31,5	26,3	21,7	18,1	16,2	14,6	12,9	11,8
28	51,0	48,3	44,5	41,3	37,9	32,6	27,3	22,7	18,9	16,9	15,3	13,6	12,5
29	52,3	49,6	45,7	42,6	39,1	33,7	28,3	23,6	19,8	17,7	16,0	14,3	13,1
30	53,7	50,9	47,0	43,8	40,3	34,8	29,3	24,5	20,6	18,5	16,8	15,0	13,8
40	56,8	63,7	59,3	55,8	51,8	45,6	39,3	33,7	29,1	26,5	24,4	22,2	20,7
50	79,5	76,2	71,4	67,5	63,2	56,3	49,3	42,9	37,7	34,8	32,4	29,7	26,0
60	92,0	88,4	83,3	79,1	74,4	67,0	59,3	52,3	46,5	43,2	40,5	37,5	35,3
70	104,2	100,4	95,0	90,5	85,5	77,6	69,3	61,7	55,3	51,7	48,6	45,4	43,3
80	116,3	112,3	106,6	101,9	96,6	88,1	79,3	71,1	64,3	60,4	57,2	53,5	51,2
90	128,5	124,1	118,1	113,1	107,6	98,6	89,3	80,6	73,3	69,1	65,6	61,5	59,2
100	140,2	135,8	129,6	124,3	118,5	109,1	99,3	90,1	82,4	77,9	74,2	70,1	67,3

