

Isolasi dan Identifikasi Agen Etiologi Gejala Snot pada Ayam Broiler di Kabupaten Kupang

Isolation and Identification of the Etiological Agents Responsible for Snot Symptoms in Broilers in Kupang Regency

Elisabet Tangkonda*, Antin Yeftanti Nugrahening Widi², Bergitha Soge³

¹Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Jalan Adi Sucipto, Universitas Nusa Cendana

²Departemen Klinik, Reproduksi, Patologi dan Nutrisi, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Jalan Adi Sucipto, Universitas Nusa Cendana

³Universitas Nusa Cendana, Kupang

*Email: tangkonda.e@staf.undana.ac.id

Diterima : 20 Juni 2022, direvisi : 20 Februari 2023, disetujui : 9 Maret 2023

Abstract

Snot is a symptom of upper respiratory system infections in poultry. It is mostly characterized by dyspnoea, nasal discharge, sneezing, snoring, facial swelling, and lacrimation. Although *Avibacterium paragallinarum* is frequently linked to snot, not all diseases that show snot symptoms are caused by this bacterium. Poultry diseases with snot symptoms are difficult to eradicate due to poor farm management system, multi age poultry farm application, temperature fluctuations, and high humidity environment, as commonly found in Indonesia. In Indonesia, the outbreak of poultry diseases with snot symptoms were reported in many provinces. This study aims to isolate and identify bacteria from broilers with snot symptoms in Kupang regency. 4 infraorbital sinus and trachea exudates samples were collected from broilers that showed typical snot symptoms from 2 commercial broiler farms in Kupang regency. The samples were then cultured on blood agar and chocolate agar (prepared with 5% sheep blood) and incubated at 37°C for 18–24 hours in aerobic and anaerobic conditions. A total of 23 isolates were purified on nutrient agar, and subsequently examined on biochemical tests such as catalase, oxidase, indole production, motility, and sugar fermentation. The results showed that of 23 isolates tested, 17 isolates (73.91%) were identified as *Avibacterium paragallinarum* (4 isolates), *Ornithobacterium rhinotracheale* (4 isolates), *Pasteurella multocida* (3 isolates) and *Mycoplasma sp.* (6 isolates), whereas 6 isolates (26.09%) were unidentified. In conclusion, *Avibacterium paragallinarum*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Pasteurella multocida*, and *Mycoplasma sp* are the possible aetiological agents of poultry diseases with snot symptoms in Kupang regency.

Key words: Bacteria; Broiler; Identification; Isolation; Kupang regency; Snot

Abstrak

Snot adalah salah satu gejala infeksi saluran pernafasan atas pada ayam, yang biasanya ditandai oleh kesulitan bernafas, eksudat dari rongga hidung, pembengkakan sinus infraorbital, ngorok, dan bersin. Meskipun seringkali dihubungkan dengan snot, tidak semua kejadian penyakit dengan gejala snot disebabkan oleh *Avibacterium paragallinarum*. Penyakit unggas dengan gejala snot sulit untuk diberantas karena manajemen peternakan yang kurang baik, variasi umur unggas dalam peternakan yang sama, fluktuasi suhu, dan kelembaban yang lebih tinggi, seperti yang sering ditemui Indonesia. Penyakit unggas dengan gejala snot telah dilaporkan dari berbagai provinsi di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri penyebab snot pada ayam broiler di Kabupaten Kupang. Sebanyak 4 sampel swab eksudat sinus infraorbital dan trachea dari unggas yang menunjukkan gejala khas snot diambil dari 2 peternakan broiler komersial di Kabupaten Kupang, dikultur pada agar darah dan agar coklat (disiapkan dengan 5% darah

domba), dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam pada kondisi aerob dan anaerob. Sejumlah 23 isolat dimurnikan pada media nutrient agar kemudian dilanjutkan dengan untuk uji biokimia (katalase, oksidase, uji motilitas dan produksi indol) dan uji fermentasi gula. Hasil pengamatan menunjukkan, dari 23 isolat yang diuji, 17 isolat (73,91%) teridentifikasi sebagai *Avibacterium paragallinarum* (4 isolat), *Ornithobacterium rhinotracheale* (4 isolat), *Pasteurella multocida* (3 isolat) dan *Mycoplasma sp.* (6 isolat), sedangkan 6 isolat (26,09%) tidak teridentifikasi.. Dapat disimpulkan bahwa *Avibacterium paragallinarum*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Pasteurella multocida*, dan *Mycoplasma sp* adalah penyebab gejala snot pada ayam broiler di Kabupaten Kupang.

Kata kunci: Bakteri; Broiler; Identifikasi; Isolasi; Kabupaten Kupang; Snot

Pendahuluan

Snot merupakan infeksi saluran pernapasan atas pada unggas dengan gejala umum seperti adanya eksudat dari cavum nasal yang beraroma khas, edema pada infraorbitalis, bersin, ngorok dan kesulitan bernapas sehingga ayam sering membuka mulut pada saat bernapas (Boulianee dkk., 2013). Menurut (Sultana dkk., 2012), kejadian penyakit dengan gejala snot terus meningkat saat pergantian musim dan lebih tinggi pada musim dengan curah hujan tinggi daripada musim panas. Morbiditas penyakit ini berkisar antara 20 sampai 50% dengan mortalitas 5 sampai 20% (Blackall & Soriano-Vargas, 2020).

Laporan kejadian *snot* telah diinformasikan dari berbagai negara termasuk Indonesia. Agen penyebab *snot* tidak hanya disebabkan oleh infeksi *A. paragallinarum*, identifikasi agen penyebab sangat penting untuk menunjang keberhasilan pengobatan *snot*. Oleh karena sebab itu diperlukan penelitian yang mendeteksi bakteri apa saja yang menjadi penyebab *snot* pada ayam broiler. Agen penyebab *snot* yang paling banyak diisolasi yaitu *Avibacterium paragallinarum*, namun agen etiologi ini tidak teridentifikasi baik melalui isolasi mikrobiologi maupun dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada kasus yang terjadi di lapangan (Askari Badouei dkk., 2013). Sebagai contohnya, dari 12 sampel ayam *layer* yang menunjukkan gejala *snot*, hanya 4 sampel yang teridentifikasi sebagai *Av. Paragallinarum* sedangkan 8 sampel lainnya tidak teridentifikasi (Tangkonda dkk., 2019). Selain itu, isolasi dan identifikasi *Av. paragallinarum* pada ayam yang menunjukkan gejala *snot* pada peternakan ayam di Makasar dan Kupang menunjukkan bahwa 4 isolat dari 7 sampel yang digunakan teridentifikasi sebagai *Av. Paragallinarum* sedangkan 3 sampel lainnya

tidak teridentifikasi sebagai *Av. Paragallinarum* (Dewi, 2015).

Kejadian penyakit dengan gejala umum *snot* sulit diberantas pada kondisi manajemen peternakan yang kurang baik atau umur ayam yang bervariasi pada kandang yang sama serta fluktuasi temperatur dan kelembapan yang cenderung tinggi seperti di Indonesia (Tabbu, 2000). Beberapa bakteri yang sering menyebabkan infeksi saluran pernapasan atas pada unggas yaitu *Pasteurella multosida*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Salmonella sp.*, *Mycoplasma meleagridi*, *Mycoplasma synoviae*, *Mycoplasma iowae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.* dan *Erysipelas rhusiopathiae* (Ali, 2020; Kursa dkk., 2021; Scholar, 2008).

Materi dan Metode

Sampel dan Tempat Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari 30 ekor ayam yang menunjukkan gejala *snot* seperti kebengkakan pada wajah dan infraorbitalis, adanya leleran dari hidung dan ngorok dari 8 peternakan ayam broiler di Kabupaten Kupang. Pengujian karakteristik biokimia terhadap isolat untuk mengidentifikasi agen penyebab dilakukan di Laboratorium Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Universitas Nusa Cendana, Kupang.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan utama penelitian ini adalah *Blood Agar Base*, darah domba, aquades steril, NaCl fisiologis, gentian violet, lugol, safranin, alkohol 95%, minyak emersi, *Nutrient Agar*, kertas pH, H_2O_3 3 %, phenol red, kertas oksidase, media Sulfide Indol Motility, media Water Pepton, Reagen Kova'c, media gula seperti glukosa,

laktosa, maltosa, manitol, galaktosa, sukrosa dan sorbitol. Alat yang digunakan antara lain: *Cotton swab sterile*, scalpel, gunting, kertas label, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung, Timbangan analitik, plastik silk, aluminum foil, ose, mikroskop, autoclave, inkubator, *water bath*, *Candle jar*, wadah, lilin, korek api, kamera dan inkubator.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu teknik acak dengan metode *purposive sampling* (Campbell dkk., 2020) yang mana pengambilan sampel dilakukan berdasarkan kriteria tertentu untuk memenuhi tujuan penelitian yaitu ayam broiler yang menunjukkan gejala *snot* di peternakan ayam Kabupaten Kupang.

Isolasi bakteri

Isolasi terhadap agen penyebab gejala *snot* dilakukan dengan melakukan *swab* pada sinus infraorbitalis. Hasil *swab* kemudian dikultur pada media agar coklat dan agar darah dengan metode sinambung, disimpan dalam *candle jar* dan tanpa *candle jar* kemudian diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam (Feberwee dkk., 2019).

Identifikasi Bakteri

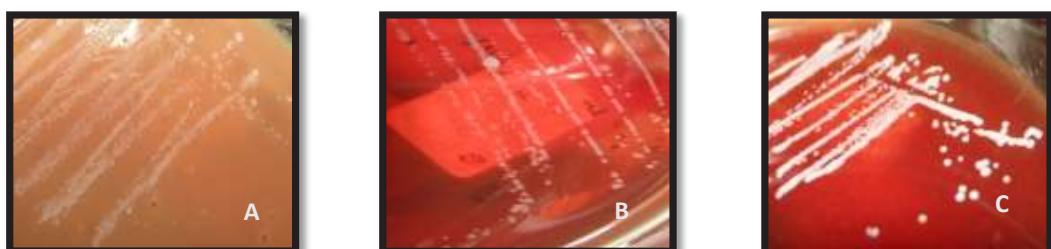
Identifikasi bakteri dilakukan dengan melakukan pengamatan makroskopis yang meliputi

pengamatan karakteristik koloni seperti ukuran, warna, bentuk, tepi dan permukaan koloni (M. R. Akter dkk., 2016), (Jeong dkk., 2017); pengamatan karakteristik mikroskopis seperti bentuk sel, dan sifat Gram; pengujian karakteristik biokimia yang meliputi uji katalase, uji oksidasi, uji motilitas, uji indol; serta pengujian fermentasi karbohidrat yang meliputi laktosa, sukrosa maltosam galaktosa, mannitol, glukosa dan sorbitol.

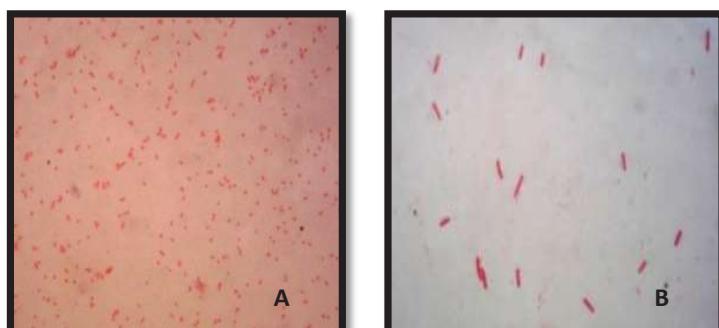
Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan makroskopis pada semua sampel menunjukkan mayoritas koloni berwarna bening, abu-abu dan putih dengan tepi halus dan tidak beraturan atau bergerigi, permukaan cembung dan rata, ukuran bervariasi antara kecil dan besar namun dominan koloni berukuran kecil (Gambar 1). Hasil pengamatan mikroskopis didapatkan hasil dari semua sampel bersifat Gram negatif dengan bentuk sel bakteri bervariasi seperti kokus (A), kokobasil dan basil (B) (Gambar 2).

Pengujian dilanjutkan dengan uji karakteristik biokimia dan fermentasi karbohidrat. Uji karakteristik biokimia yang dilakukan dalam penelitian ini (Tabel 1) yaitu uji katalase, uji oksidase, uji motilitas dan uji indol, sedangkan media yang digunakan untuk uji fermentasi karbohidrat yaitu glukosa, laktosa, maltosa, galaktosa, sukrosa, mannitol, dan sorbitol. Pada



Gambar 1. Hasil Pengamatan Makroskopis (A) Koloni bening; (B) Koloni abu-abu; (C) Koloni putih



Gambar 2. Hasil Pengamatan Mikroskopis. (A) sel bakteri bentuk kokus; (B) sel bakteri bentuk basil

penelitian ini, uji katalase yang dilakukan pada 23 isolat menunjukkan hasil 9 isolat bersifat katalase positif, sedangkan 14 isolat bersifat katalase negatif. Hasil uji oksidase terhadap 23 isolat menggunakan strip oksidase menunjukkan bahwa 19 isolat memiliki hasil oksidase positif, sedangkan 4 isolat memiliki hasil oksidase negatif. Hasil uji motilitas yang dilakukan terhadap 23 isolat yang diinokulasikan pada media SIM, didapatkan 18 isolat bersifat non motil karena bakteri hanya tumbuh pada bekas tusukan ose lurus, dan 5 isolat lainnya berubah warna menjadi hitam. Pada uji indol yang dilakukan terhadap 23 isolat menunjukkan bahwa 11 isolat memiliki hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya cincin merah setelah penambahan reagen Kovac's, sedangkan 12 isolat memiliki hasil negatif pada uji indol.

Hasil uji fermentasi karbohidrat (Tabel 2.) menunjukkan bahwa dari total 23 isolat yang diuji, 17 isolat mampu memfermentasi glukosa. Semua isolat menunjukkan hasil fermentasi

positif terhadap laktosa, mannitol dan maltosa. Sejumlah 13 isolat mampu memfermentasi galaktosa, sedangkan 10 isolat yang tidak memfermentasi galaktosa. 1 isolat memiliki hasil positif, sebaliknya, 22 isolat memiliki hasil negatif terhadap sorbitol. Sebanyak 18 isolat memiliki hasil positif, sedangkan 5 isolat memiliki hasil negatif terhadap sukrosa.

Penentuan agen penyebab infeksi

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik, serta uji karakteristik biokimia dan fermentasi karbohidrat, isolat-isolat yang telah diidentifikasi dikelompokkan untuk dilakukan identifikasi lebih lanjut (Tabel 3).

Kelompok isolat pertama dapat tumbuh pada agar darah dan agar coklat dalam suasana aerob dan anaerob dengan koloni bening, kecil dan halus seperti tetesan embun serta tidak menghemolis sel darah merah. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan sel bakteri berbentuk kokus dan kokobasil serta bersifat

Tabel 1. Hasil Uji Karakteristik Biokimia

No.	Kode Isolat	Jenis Uji Biokimia			
		Katalase	Oksidase	Motilitas	Indol
1.	a	-	+	-	+
2.	b	+	+	X	-
3.	c	-	+	-	-
4.	d	-	+	X	-
5.	e	-	+	-	+
6.	f	+	-	-	+
7.	g	+	+	X	+
8.	h	+	+	-	+
9.	i	-	+	-	-
10.	j	-	+	-	-
11.	k	-	-	X	+
12.	A	-	+	-	-
13.	B	+	+	-	-
14.	C	+	-	-	+
15.	D	-	+	-	-
16.	E	-	+	x	-
17.	F	-	+	-	-
18.	G	+	+	-	+
19.	H	+	+	-	+
20.	I	-	+	-	+
21.	J	-	+	-	-
22.	K	-	+	-	-
23	L	+	-	-	+

Keterangan : + : Hasil positif ; - : Hasil negatif

Tabel 2. Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat

Kode Isolat	Jenis – Jenis Karbohidrat						
	Glukosa	Sorbitol	Manitol	Maltosa	Galaktosa	Sukrosa	Laktosa
a	+	-	+	+	+	+	+
b	-	-	+	+	-	+	+
c	+	-	+	+	-	-	+
d	+	-	+	+	-	-	+
e	+	-	+	+	+	+	+
f	+	-	+	+	+	+	+
g	-	-	+	+	-	+	+
h	+	-	+	+	+	+	+
i	-	-	+	+	-	+	+
j	+	-	+	+	+	+	+
k	-	-	+	+	+	+	+
A	-	+	+	+	+	+	+
B	+	-	+	+	-	+	+
C	+	-	+	+	-	-	+
D	+	-	+	+	+	+	+
E	+	-	+	+	-	-	+
F	+	-	+	+	+	+	+
G	+	-	+	+	+	+	+
H	+	-	+	+	+	+	+
I	+	-	+	+	+	+	+
J	+	-	+	+	+	+	+
K	+	-	+	+	-	-	+
L	-	-	+	+	-	+	+

Keterangan ; + : Hasil positif ; - : Hasil negatif

Gram negatif. Pengujian karakteristik biokimia menunjukkan hasil katalase negatif, oksidase positif dan negatif, non motil dan indol negatif. Pada uji fermentasi karbohidrat, kelompok isolat ini mampu memfermentasi sukrosa, glukosa dan maltosa, tidak dapat memfermentasi sorbitol dan galaktosa, dan pada laktosa dan manitol hasil uji tidak tetap atau relatif yang artinya dapat memiliki hasil positif ataupun negatif. Berdasarkan sifat tersebut, dan dengan memperhatikan kesesuaian karakteristik makroskopis, mikroskopis, biokimia dan fermentasi karbohidrat yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya (Priya dkk., 2012), (Thenmozhi & Malmarugan, 2013), (S. Akter dkk., 2014), (Feberwee dkk., 2019), dan (Tangkonda dkk., 2019), maka dapat disimpulkan bahwa kelompok isolat diatas merupakan *Avibacterium paragallinarum*.

Kelompok isolat kedua dapat tumbuh pada media agar darah pada suasana aerob dan anaerob dengan koloni halus, abu-abu, bersifat Gram negatif dan berbentuk kokobasil. Hasil

pengujian karakteristik biokimia menunjukkan hasil katalase positif dan negatif, oksidase positif, menghasilkan indol dan bersifat non motil. Kelompok isolat ini mampu memfermentasi sukrosa, galaktosa dan glukosa, tidak dapat memfermentasi sorbitol dan pada laktosa, maltosa dan manitol memiliki hasil yang tidak tetap atau dapat berubah. Berdasarkan karakteristik diatas dan kesamaan yang didapat berdasarkan karakteristik makroskopis, mikroskopis, biokimia dan fermentasi karbohidrat yang dilakukan oleh (Balakrishnan & Roy, 2012), (Yakubu dkk., 2015), dan (Suleiman dkk., 2021), maka kelompok isolat kedua ini diidentifikasi sebagai *Pasteurella multocida*.

Kelompok isolat ketiga dapat tumbuh pada media agar darah dan agar coklat dengan morfologi koloni berwarna abu-abu hingga abu-abu putih, dapat tumbuh pada agar darah dan agar coklat dalam suasana aerob maupun anaerob serta tidak menghemolis sel darah merah. Pada pengujian karakteristik biokimia,

bakteri pada kelompok isolat ini memiliki hasil katalase negatif, oksidase positif, tidak menghasilkan indol dan bersifat non motil. Kemampuan fermentasi karbohidrat bervariasi yaitu dapat memfermentasi glukosa, galaktosa, sukrosa, laktosa dan maltosa, sedangkan pada sorbitol dan manitol memiliki hasil negatif yang artinya tidak dapat memfermentasi sorbitol dan manitol. Berdasarkan karakteristik diatas dan kesesuaian dengan karakteristik makroskopis, mikroskopis, biokimia dan fermentasi karbohidrat yang dilakukan oleh (Zahra dkk., 2013), (Patel dkk., 2017), dan (Asadi dkk., 2022) dapat disimpulkan bahwa bakteri pada kelompok ketiga ini adalah *Ornithobacterium rhinotracheale*.

Kelompok isolat keempat merupakan bakteri Gram negatif, pleomorfik yang dapat tumbuh pada agar darah maupun agar coklat dalam suasana aerob maupun anaerob dengan karakteristik koloni berwarna putih, cembung dengan bagian tengah koloni terbentuk tonjolan dan dapat menghemolis sel darah merah. Hasil uji karakteristik biokimia menunjukkan hasil katalase negatif, oksidase positif dan negatif, non motil dan dapat menghasilkan indol. Kelompok isolat ini mampu memfermentasi glukosa, maltosa, laktosa dan sukrosa, tidak dapat memfermentasi sorbitol, sedangkan pada galaktosa dan manitol memiliki hasil yang tidak tetap atau relatif karena memiliki hasil positif dan negatif. Berdasarkan karakteristik diatas dan kesamaan karakteristik makroskopis, mikroskopis, biokimia dan fermentasi karbohidrat yang dilakukan oleh (Pudjiatmoko dkk., 2014) dan(Logesh dkk., 2018), maka kelompok isolat keempat ini merupakan *Mycoplasma* sp.

Hasil pengelompokan isolat-isolat yang didapatkan, dari 23 isolat yang ditemukan, 17 isolat (73.91%) dapat teridentifikasi dengan baik, sedangkan 6 isolat (26.09%) tidak teridentifikasi. 17 isolat yang berhasil diidentifikasi tersebut terdiri atas *Avibacterium paragallinarum* (4 isolat; 23.53%), *Pasteurella multocida* (3 isolat; 17.65%), *Ornithobacterium rhinotracheale* (4 isolat; 23.53%), dan *Mycoplasma* sp. (6 isolat; 35.29%).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penyakit dengan gejala SNOT pada ayam yang ada di peternakan Kabupaten Kupang

tidak hanya disebabkan oleh *Avibacterium paragallinarum*, namun juga oleh bakteri lainnya. Hal ini membuktikan bahwa SNOT dapat disebabkan oleh infeksi multibakteri. Hal serupa juga dilaporkan oleh Sid dkk, (2015). Infeksi multibakteri pada ayam dengan gejala SNOT mengakibatkan penyakit ini sulit diberantas dan mungkin menjadi penyebab tingginya tingkat morbiditas penyakit ini.

Temuan infeksi multibakteri pada kasus SNOT dalam penelitian ini dapat diimplementasikan terutama dalam penggunaan antibiotik bagi pengobatan kasus SNOT. Mengingat agen penyebab SNOT yang beragam, pemilihan antibiotik yang tepat sangat bermanfaat bagi efektivitas pengobatan, sekaligus mengurangi konsekuensi resistensi yang mungkin akan dihadapi.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri pada ayam yang menunjukkan gejala SNOT di peternakan broiler di Kabupaten Kupang, ditemukan bahwa SNOT dapat terjadi karena infeksi multibakteri. Selain *Avibacterium paragallinarum*, beberapa bakteri lain juga berhasil diidentifikasi yaitu *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Pasteurella multocida* dan *Mycoplasma* sp.

Daftar Pustaka

- Akter, M. R., Khan, M. S. R., Rahman, M. M., Kabir, S. L., & Khan, M. A. S. (2016). Epidemic behavior of the etiological agent of infectious coryza in layer chicken of Bangladesh with isolation, identification and pathogenicity study. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 2(1), 82–94.
- Akter, S., Saha, S., Ahmed Khan, K., Mansurul Amin, M., & Ehsanul Haque, M. (2014). *Online) Microbes and Health*. 3(1), 9–11.
- Ali, M. (2020). Common Respiratory Diseases of Poultry in Bangladesh: A Review. *SAARC Journal of Agriculture*, 18(1), 1–11.
- Asadi, N., Bozorgmehri-Fard, M. H., Seifi, S., Khoshbakht, R., & Sheikhi, N. (2022). Isolation, characterization, and genotyping of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolated from broiler and broiler breeder

- flocks in Mazandaran province, Northern Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 23(1), 32–38. <https://doi.org/10.22099/IJVR.2021.41729.6074>
- Askari Badouei, M., Sadrzadeh, A., Azad, N., Blackall, P., Madadgar, O., & Charkhkar, S. (2013). Isolation and molecular identification of avibacterium paragallinarum in suspected cases of infectious coryza. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 38(1), 46-49.
- Balakrishnan, G., & Roy, P. (2012). *Isolation, Identification and Antibiogram of Pasteurella Multocida Isolates of Avian Origin*.
- Blackall, P. J., & Soriano-Vargas, E. (2020). Infectious Coryza and Related Bacterial Infections. In David E. Swayne, Martine Boulian, Catherine M. Logue, Martine Boulian, Catherine M. Logue, Larry R. McDougald, Venugopal Nair, David L. Suarez, Sjaak de Wit, Tom Grimes, Deirdre Johnson, Michelle Kromm, Teguh Yodiantara Prajitno, Ian Rubinoff, & Guillermo Zavala (Eds.), *Diseases of Poultry* (pp. 890–906). Wiley.
- Boulian, M. (Martine), M. L. Brash, B. R. Charlton, S. H. Fitz-Coy, R. M. Fulton, R. J. Julian, M.W. Jackwood, D. Ojkic, L. J. Newman, J. E. Sander, H. L. Shivaprasad, E. Wallner-Pendleton, P. R. Woolcock, & American Association of Avian Pathologists. (2013). *Avian disease manual* (7th ed.). American Association of Avian Pathologists.
- Campbell, S., Greenwood, M., Prior, S., Shearer, T., Walkem, K., Young, S., Bywaters, D., & Walker, K. (2020). Purposive sampling: complex or simple? Research case examples. *Journal of Research in Nursing*, 25(8), 652–661.
- Dewi, Purnama, S.A.P., Wahyuni A.E.T.H. (2015). Isolasi dan Identifikasi Avibacterium Paragallinarum Dari Broiler yang Menunjukkan Gejala Snot. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Feberwee, A., Dijkman, R., Buter, R., Soriano-Vargas, E., Morales-Erasto, V., Heuvelink, A., Fabri, T., Bouwstra, R., & de Wit, S. (2019). Identification and characterization of Dutch Avibacterium paragallinarum isolates and the implications for diagnostics. *Avian Pathology*, 48(6), 549–556.
- Jeong, O.-M., Kang, M.-S., Jeon, B.-W., Choi, B.-K., Kwon, Y.-K., Yoon, S.-Y., Blackall, P. J., Lee, H.-S., Jung, S.-C., & Kim, J.-H. (2017). Isolation and characterization of Avibacterium paragallinarum with different nicotinamide adenine dinucleotide requirements. *Veterinary Microbiology*, 205, 62–65.
- Kursa, O., Tomczyk, G., Sawicka-Durkalec, A., Giza, A., & Słomiany-Szwarc, M. (2021). Bacterial communities of the upper respiratory tract of turkeys. *Scientific Reports*, 11(1).
- Logesh, P., Sukumar, K., & Durairajan, R. (2018). Isolation, Identification and Molecular Characterization of Field Isolates Of Mycoplasma Gallisepticum. www.ijset.net
- Patel, J. G., Patel, B. J., Joshi, D. v., Patel, S. S., Raval, S. H., Parmar, R. S., Chauhan, H. C., & Chandel, B. S. (2017). Culture based isolation of pathogenic bacteria associated with respiratory disease complex in broiler with special reference to ornithobacterium rhinotracheale from India. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11(4), 1919–1924.
- Priya, P. M., Vamshi Krishna, S., Mini, M., & Priya, P. (2012). Isolation and characterization of Avibacterium paragallinarum from ornamental birds in Thrissur, Kerala. In *International Journal of Life Sciences Priya et.al* (Vol. 1, Issue 3).
- Pudjiatmoko, Muhammad Syibli, Sigit Nurtanto, Nilma Lubis, Syafrison, Siti Yulianti, Dhony Kartika, Chornelly Kusuma Yohana, Erlyna Setianingsih, Nurhidayah, Dian Efendi, Esti Saudah, Ida Tjahajati, Gunanti, Suwarno, Abadi Sutisna, Suhardono, Sri Widjajanti, Budiantono, ... Suryo Purnomo Edi. (2014). *MANUAL PENYAKIT UNGGAS* (Vol. 2).

- Scholar, S. B. P. (2008). Common Respiratory Diseases of Poultry. In *Veterinary World*. www.veterinaryworld.org (Vol. 1, Issue 7). www.veterinaryworld.org
- Sid, H., Benachour, K., & Rautenschlein, S. (2015). Co-infection with Multiple Respiratory Pathogens Contributes to Increased Mortality Rates in Algerian Poultry Flocks. *Avian Diseases*, 59(3), 440–446.
- Suleiman, A. B., Hussaini, I. M., Odumosu, B. T., & Woziri, A. (2021). *Characterization and Serotyping of Pasteurella multocida isolated from Deep Litter and Free-range Chickens in Vom, Plateau State, Nigeria. Organic acid production View project Antibacterial Activity of Aloe vera Gel against Multidrug Resistant Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa View project.* <https://www.researchgate.net/publication/357380697>
- Sultana, R., Siddique, B., Ali, R., & Chaudhary, S. (2012). A study on the prevalence of respiratory diseases in broiler and layer flocks in and around Lahore district. In *J. Zool* (Vol. 27, Issue 1).
- Tabbu, C. R. (2000). Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Vol. 1. Penerbit Kanisius, Yogyakarta. Hal 14-20.
- Tangkonda, E., Tabbu, C. R., & Wahyuni, A. E. T. H. (2019). Isolasi, Identifikasi, dan Serotyping Avibacterium paragallinarum dari Ayam Petelur Komersial yang Menunjukkan Gejala Snot. *Jurnal Sain Veteriner*, 37(1), 27–33.
- Thenmozhi, V., & Malmarugan, S. (2013). Isolation, identification and antibiogram pattern of Avibacterium paragallinarum from Japanese quails. *Tamilnadu Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 9, 253–258.
- Yakubu, D., Moshood, R., Paul, A., Blessing, O., & Lola, O. (2015). Phenotypic Characteristics of Pasteurella Multocida Isolated From Commercial Chickens Affected By Fowl Cholera in Jos. In *Nigeria. J. World's Poult. Res* (Vol. 5, Issue 3).
- Zahra, M., Ferreri, M., Alkasir, R., Yin, J., Han, B., & Su, J. (2013). Isolation and characterization of small-colony variants of ornithobacterium rhinotracheale. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(10), 3228–3236.