

## Koksidiosis sebagai Faktor Predisposisi Enteritis Nekrotika pada Ayam dan Pencegahannya

### (Coccidiosis as A Predisposition Factor for Necrotic Enteritis in Poultry and Their Prevention)

Ening Wiedosari dan Y Sani

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata No.30 Bogor  
Kontributor utama: [eningwied@yahoo.com](mailto:eningwied@yahoo.com)

(Diterima 18 Mei 2020 – Direvisi 5 Agustus 2020 – Disetujui 19 Agustus 2020)

#### ABSTRACT

Coccidiosis and necrotic enteritis are both affecting the digestive tract of chicken and both are major enteric disease that mainly affect poultry. Among the enteric diseases, necrotic enteritis is a major problem. Coccidiosis is caused by the protozoan of *Eimeria* sp, and is commonly found as a predisposition factor for necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens*. Both diseases are commonly shown similar pathological change namely necrosis of epithelial cells in the intestinal mucosa. The diseases have great economic impact in poultry productions, due to the increased mortality, decreased performance and medication costs. Control of these diseases are commonly treated with antibiotics and ionophores. However, an intensive use of these drugs in feed may cause the emergence of drug-resistance against some strains of *Eimeria* sp. and *Cl. Perfringens* and an increased chance of contamination in animal products for human consumption. The paper is discussing the occurrence of necrotic enteritis especially due to the coccidian as a major predisposition factor and the development of alternative control strategies for avian coccidiosis and necrotic enteritis, by modulating intestinal health.

**Key words:** Coccidiosis, necrotic enteritis, chicken, predisposition factor, prevention

#### ABSTRAK

Koksidiosis dan enteritis nekrotika adalah penyakit akibat infeksi pada saluran pencernaan ayam dan merupakan 2 penyakit enteritis yang terutama menyerang unggas. Diantara penyakit enteritis pada unggas, nekrotik enteritis menjadi masalah terbesar. Koksidiosis disebabkan oleh protozoa genus *Eimeria*, dan sering ditemukan sebagai faktor predisposisi untuk penyakit enteritis nekrotika yang umumnya disebabkan oleh bakteri *Clostridium perfringens*. Kedua penyakit ini memiliki gambaran patologi yang serupa yakni nekrosis pada epitelium mukosa usus halus. Kerugian ekonomi yang ditimbulkan oleh penyakit ini sangat tinggi terutama pada wilayah penghasil unggas, karena kematian ayam, biaya pengobatan yang tinggi dan gangguan pertumbuhan. Penanggulangan penyakit ini umumnya dilakukan dengan menggunakan antibiotik dan ionofor. Dampak negatif penggunaan obat kimia pada ternak adalah munculnya residu pada produk ternak dan resistensi *Eimeria* sp. dan *Cl. perfringens* yang pada akhirnya dapat membahayakan kesehatan masyarakat. Makalah ini membahas peran koksidiosis sebagai faktor predisposisi penyakit enteritis nekrotika pada ayam dan alternatif pencegahan kedua penyakit tersebut dengan cara modulasi kesehatan intestinal.

**Kata kunci:** Koksidiosis, enteritis nekrotika, ayam, faktor predisposisi, pencegahan

#### PENDAHULUAN

Ayam ras merupakan salah satu potensi andalan subsektor peternakan dalam penyediaan bahan pangan dan sumber protein hewani yang relatif murah serta merupakan sumber pendapatan bagi masyarakat. Namun demikian masalah penyakit unggas, khususnya koksidiosis dan enteritis nekrotika, merupakan kendala dalam pengembangan peternakan unggas yang sering menimbulkan kerugian di seluruh dunia termasuk Indonesia (Wiedosari & Wardhana 2017; Skinner et al. 2010; Abdelrahman et al. 2014). Kedua penyakit ini

merusak jaringan saluran pencernaan terutama usus halus menyebabkan enteritis, sehingga berdampak terhadap proses pencernaan dan penyerapan zat nutrisi yang tidak optimal dan akhirnya mempengaruhi produksi ayam. Kerugian ekonomi umumnya disebabkan karena kematian ayam, biaya pengobatan yang tinggi, gangguan pertumbuhan pada ayam pedaging dan penurunan produksi telur pada ayam petelur. Kerugian ekonomi akibat koksidiosis diperkirakan mencapai 3 milyar dolar AS per tahun di negara-negara produsen unggas seperti Amerika Serikat, Cina, Brazil, Mexico, Russia dan India

(FAOSTAT 2014), sedangkan enteritis nekrotika diperkirakan mencapai 6 milyar dolar AS per tahun di Amerika Latin dan Eropa (Wade & Keyburn 2015).

Di Indonesia, penyakit koksidiosisis mudah berkembang karena suhu optimum perkembangan *Eimeria* sp yang sesuai yaitu 21°C–32°C serta kelembaban yang cukup (Cahyaningsih 2012). Disamping itu, infeksi koksidiosisis pada unggas dapat berperan sebagai faktor predisposisi utama timbulnya penyakit enteritis nekrotika yang disebabkan oleh *Cl. perfringens* (Timbermont et al. 2011; Wu et al. 2014; Stanley et al. 2014; Wilson et al. 2018), akibat lesi pada usus halus yang berupa kerusakan sel epitelium pada villi mukosa usus halus. Diantara penyakit enteritis pada unggas, nekrotik enteritis yang disebabkan oleh *Cl. perfringens* menjadi perhatian peternak karena tingginya angka mortalitas, parahnya derajat kerusakan saluran pencernaan dan rendahnya produktivitas ternak yang terinfeksi (Khalique et al. 2020).

Penanggulangan kedua penyakit enteritis tersebut dilakukan dengan menggunakan antibiotik dan obat sintetik lainnya seperti sulfonamida dan ionofor sudah sering dilakukan di Indonesia dan negara lain (Oh et al. 2018), tetapi sampai saat ini koksidiosisis belum teratasi dan masih sering muncul di berbagai peternakan ayam. Dampak negatif penggunaan obat kimia secara terus menerus pada ternak adalah timbulnya residu pada produk ternak dan resistensi koksidia *Eimeria* sp dan *Cl. perfringens* terhadap obat tersebut, yang pada akhirnya membahayakan kesehatan masyarakat (Abbas et al. 2011; Nilsson et al. 2012). Di negara maju seperti masyarakat Uni Eropa, penggunaan antibiotik sebagai imbuhan pakan sangat ketat dan dibatasi, begitu juga di Indonesia saat ini (Permentan Nomor 14/2017 Pasal 16). Pelarangan penggunaan antibiotik atau antimikrobia sebagai bahan aditif dalam pakan ternak perlu alternatif untuk pencegahan penyakit ini. Makalah ini membahas faktor predisposisi terjadinya penyakit nekrotik enteritis terutama yang disebabkan oleh koksidiosisis serta alternatif pencegahan kedua penyakit enteritis ayam tersebut dengan cara modulasi kesehatan intestinal.

## KOKSIDIOSIS PADA AYAM

Koksidiosisis adalah penyakit infeksius pada unggas disebabkan oleh protozoa Apicomplexan genus *Eimeria* yang menyerang saluran pencernaan (usus) (Blake et al. 2015) dan merupakan salah satu faktor predisposisi penting untuk penyakit nekrotik enteritis (Wu et al. 2014; Stanley et al. 2014; Wilson et al. 2018; Timbermont et al. 2011). Penyakit ini menyerang ayam pedaging dan petelur terutama pada ayam muda, tetapi dapat pula terjadi pada ayam dewasa yang rentan serta unggas lainnya seperti burung (Quiroz-Castañeda &

Dantán-González 2015). Gejala klinis koksidiosisis biasanya ditandai dengan diare (kadang-kadang diare berdarah), kurus, lesu, gangguan pertumbuhan, bulu kusam, penurunan nafsu makan dan lemah akibat terjadinya peradangan saluran pencernaan, dengan kematian antara 24,4-43,9% (Györke et al. 2016). Penularan koksidiosisis dengan cara menelan ookista yang telah bersporulasi melalui pakan, air minum atau kotoran yang tercemar oleh *Eimeria* sp (Abdelrahman et al. 2014; Cahyaningsih 2012).

## Etiologi

*Eimeria* sp adalah penyebab utama koksidiosisis dan hampir selalu ditemukan pada berbagai daerah yang memelihara ayam. Hal ini disebabkan karena manajemen industri perunggasan umumnya menerapkan sistem pemeliharaan intensif dengan tingkat kepadatan flock dan skala usaha yang tinggi. Biasanya penularan penyakit terjadi dari satu peternakan ke peternakan lain melalui pekerja ataupun peralatan yang berpindah-pindah (Akhtar et al. 2012; Abdelrahman et al. 2014). (Quiroz-Castañeda & Dantán-González 2015) melaporkan bahwa koksidiosisis sering disebut sebagai penyakit yang mampu melakukan pencegahan sendiri, dimana jumlah ookista akan meningkat selama periode pertumbuhan, kemudian menurun setelah timbulnya kekebalan terhadap penyakit tersebut. Sehingga kejadiannya tergantung dari jumlah ookista yang tertelan dan status kekebalan ayam.

*Eimeria* sp termasuk dalam Filum Apicomplexa dari Kelas Sporozoa, Ordo Coccidia, Famili Eimeriidae dan Genus *Eimeria*. Ayam dapat terinfeksi oleh 9 jenis *Eimeria*, yaitu: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. hagani*, *E. maxima*, *E. mivati*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox* dan *E. Tennella* (Blake & Tomley 2014). *Eimeria* bermultiplikasi pada sel epitelium saluran pencernaan yang menimbulkan kerusakan jaringan usus halus, sehingga mengakibatkan gangguan pada proses digesti dan absorpsi nutrisi, dehidrasi, kehilangan darah dan meningkatnya kepekaan terhadap penyakit lain seperti *Cl. perfringens* (Bozkurt et al. 2013; Assis et al. 2010).

## Siklus hidup

Siklus hidup dari *Eimeria* sp sangat kompleks, memiliki dua fase perkembangan-biakan. Tahap eksogenus dimulai pada saat ookista yang tidak infeksius keluar bersama feses dari ayam yang terinfeksi koksidiosisis. Selanjutnya akan dihasilkan ookista yang infeksius setelah bersporulasi, ookista yang infeksius mengandung 4 sporokista yang masing-masing berisi 2 sporozoit (Blake & Tomley 2014). Tahap endogenus terjadi apabila ookista bersporulasi masuk ke tubuh

ayam bersama pakan atau minuman yang tercemar. Ookista akan pecah dan melepaskan sporokista yang akan menembus sel epitel usus dan menjadi trophozoit (Blake & Tomley 2014; Lal et al. 2010).

Reproduksi secara aseksual terjadi dua kali, dimulai dari trophozoit yang memperbanyak diri menjadi skizon dan merozoit yang berturut-turut secara skizogoni dan merogoni. Merozoit yang dihasilkan akan masuk ke dalam lumen usus dan berkembang menjadi stadium seksual yaitu mikrogamet dan makrogamet (gametogoni). Fertilisasi menghasilkan zigot yang akan dewasa menjadi ookista dan dikeluarkan bersama feses. Kerusakan jaringan di mukosa usus sangat jelas terjadi terutama pada saat pecahnya skizon generasi dua menjadi merozoit, atau pada saat gametogoni yang menghasilkan reaksi selular

dan peradangan yang parah. Kerusakan jaringan ini yang dibutuhkan bakteri *Cl. perfringens* untuk berkembang (Assis et al. 2010; Gilbert et al. 2011).

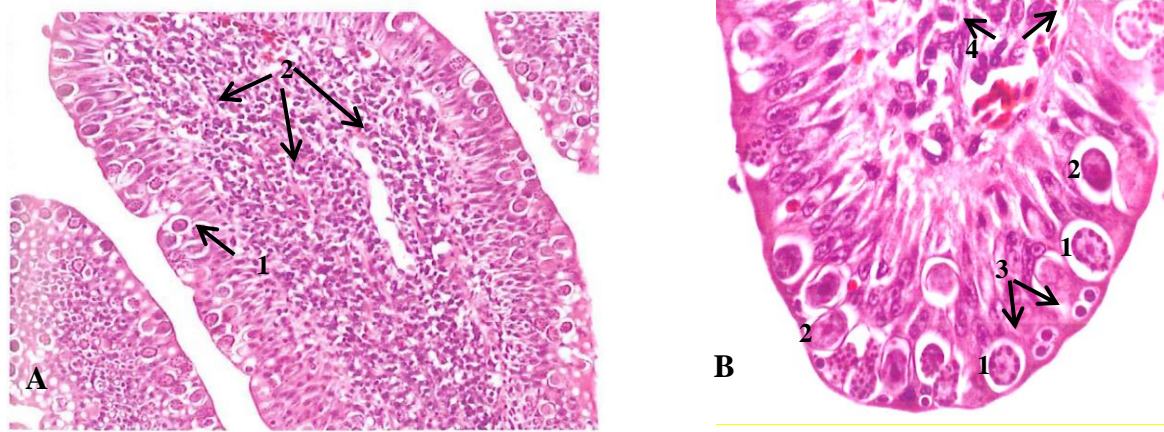
### Perubahan patologi

Perubahan patologi anatomi secara khas terlihat perdarahan di sepanjang saluran pencernaan (usus halus) ,perdarahan berupa petechiae pada mukosa saluran pencernaan terutama di caecum. Sedangkan secara mikroskopis terlihat nekrosis dan desquamasi sel epitel villi mukosa, haemorrhagi pada villi mukosa, dilatasi kelenjar Lieberkuhn, nekrosis tunika muskularis dan ditemukan ookista koksidia pada sel epitel villi mukosa (Assis et al. 2010).



**Gambar 1.** Enteritis yang disebabkan oleh berbagai spesies *Eimeria* sp pada ayam.

- A. *Eimeria acervulina*. Lesio berbentuk bulat berwarna keputih-putihan di duodenum dan dinding usus menebal (panah);
- B. *E. mivati*. Lesio pada duodenum berupa endapan (plak) berbentuk bulat, kadang menyatu dan dinding usus menebal (panah);
- C. *E. maxima*. Lesio berupa petekie di jejunum, ada eksudat mucoid bercampur darah dan dinding usus menebal (panah);
- D. *E. necatrix*. Lesio berupa bintik putih (skizon) di jejunum, petekie, eksudat mucoid bercampur darah dan menggelembung (panah); dan
- E. Infeksi *Eimeria tenella*. Lesio berupa perdarahan di dalam sekum dan mukosa menebal (panah) (Conway dan McKenzie, 2007).



**Gambar 2.** Infeksi *Eimeria acervulina* pada ayam.

- A. Enteritis. 1. Enterosit stadium endogenus dari *E. acervulina* pada villi duodenum dan 2. Infiltrasi sel mononuklear (limfosit dan makrofag) dan haemoragi. HE x200; dan
- B. Enteritis menunjukkan stadium pertumbuhan dari *E. acervulina*. 1. Zygot/makrogamet 2. Ookista, 3. Trophozoit 4. Infiltrasi sel mononuklear dan hemoragi pada villi mukosa. HE x7.193 (Abdul-Aziz et al. 2016)

Gambaran makroskopis koksidiosis terlihat pada Gambar 1: A, B, C, D dan E menunjukkan enteritis yang disebabkan oleh beberapa spesies *Eimeria* sp berupa perdarahan pada villi mukosa saluran pencernaan ayam. Gambaran mikroskopis infeksi koksidiosis pada ayam terlihat pada Gambar 2 (A dan B) yang menunjukkan enteritis akibat infeksi *E. acervulina* berupa kerusakan jaringan pada vili mukosa beserta stadium pertumbuhan *E. acervulina* yaitu zygotes/makrogamet, ookista, dan trophozoit. Selain kerusakan epitel mukosa, koksidiosis juga menimbulkan nekrosis sel epitel vili mukosa, haemoragi dan infiltrasi sel mononuklear (limfosit dan makrofag) serta sel eosinofil (Abdul-Aziz et al. 2016).

### KOKSIDIOSIS SEBAGAI FAKTOR PEDESPOSISI ENTERITIS NEKROTIKA

#### Enteritis nekrotika

Penyakit ini disebabkan oleh *Cl. perfringens* tipe A atau C berbentuk batang lurus, gram positif dan membentuk spora. Bakteri ini dapat ditemukan di dalam feses, tanah, debu, pakan, *litter* yang tercemar dan sebetulnya merupakan mikroflora normal yang terdapat di dalam isi usus (Fasina & Lillehoj 2019). Populasi *Clostridium perfringens* dalam usus normal, yaitu kurang dari  $10^2$  colony forming unit (CFU) per gram sedangkan pada kondisi sakit dapat mencapai  $10^6$ - $10^8$  CFU per gram (Yang et al. 2016; Kiu & Hall 2018).

Kasus enteritis nekrotika ditemukan pada ayam pedaging umur 2-5 minggu, sedangkan pada ayam petelur umur 3-6 bulan (Paiva & McElroy 2014; Yang et al. 2016). Pada kasus *sub clinical necrotic enteritis* (SNE) tidak ditandai dengan kematian, tetapi ayam cenderung bergerombol, depresi, diare dan penurunan atau kehilangan nafsu makan sehingga pertumbuhan buruk (Timbermont et al. 2011; Khaliq et al. 2020). Sedangkan pada kasus klinis, kematian pada ayam bisa mencapai 34,8 - 50% (Paiva & McElroy 2014) bahkan tanpa didahului oleh gejala klinik tertentu. Biasanya proses berlangsung cepat dan pada nekropsis ditemukan lesi nekrosis pada mukosa usus halus, terutama pada jejunum dan ileum. Pada kasus penyakit subklinis akibat kerusakan jaringan usus, kolonisasi *Cl. perfringens* bisa mencapai organ hati melalui saluran empedu, sehingga menyebabkan radang yaitu *cholangiohepatitis* yang sering dijumpai pada saat pemeriksaan pascamati. Kasus kondensasi hati dan gangguan pertumbuhan menyebabkan kerugian ekonomis secara signifikan bagi peternak dibanding penyakit yang bersifat klinis walaupun dengan kematian yang tinggi (Timbermont et al. 2011; Khaliq et al. 2020).

#### Patogenesis penyakit enteritis nekrotika

Pada dasarnya telah banyak publikasi tentang mekanisme *Cl. perfringens* sebagai penyebab enteritis nekrotika pada unggas, yaitu dalam perkembangannya diperlukan suatu kerusakan sel epitelium pada mukosa usus yang terutama disebabkan oleh infeksi koksidiosis (Timbermont et al. 2011; Wu et al. 2014; Stanley et al. 2014; Wilson et al. 2018), seperti dijelaskan pada Gambar 3. Infeksi koksidiosis yang disebabkan oleh *Eimeria* sp merupakan faktor utama dalam patogenesis nekrotik enteritis dimana protozoa ini akan bermultiplikasi dengan cepat pada sel epitel mukosa usus halus sehingga menimbulkan peradangan, kerusakan saluran pencernaan dan perdarahan yang selanjutnya mempercepat terjadinya infeksi sekunder (Assis et al. 2010). Kerusakan saluran pencernaan yang disebabkan koksidiosis ini menjadi faktor predisposisi penting untuk *Cl. perfringens* dan produksi toksin (Forder et al. 2012; Assis et al. 2010). Lesi ini menyebabkan keluarnya plasma protein melalui jaringan intersel ke dalam lumen usus. Selain itu, infeksi koksidiosis akan menginduksi sel T sehingga akan menimbulkan respon sel radang melalui peningkatan sekresi cairan mukus (Forder et al. 2012; Kim et al. 2019). Kedua substansi tersebut (plasma protein dan cairan mukus) merupakan kondisi yang baik bagi pertumbuhan *Cl. perfringens*, sehingga populasinya tumbuh subur dan terjadi enteritis nekrotika. Peningkatan populasi *Cl. perfringens* dalam usus biasanya diikuti dengan pembentukan enterotoksin yang menyebabkan kematian ayam (Uzal et al. 2014; Keyburn et al. 2010).

Peningkatan pertumbuhan *Cl. perfringens* pada saluran intestinal menyebabkan ketidakseimbangan mikroba intestinal atau *microbial imbalance* dari sejumlah flora normal intestinal. Kondisi ini ditandai dengan perubahan ketebalan, tonus, dan kekuatan dinding intestinal. Peningkatan permeabilitas paraseluler mempermudah penetrasi toksin dan antigen yang menstimulasi reaksi inflamasi yang mengakibatkan terjadinya peningkatan produksi dan komposisi mukus yang menarik spesies mukolitik seperti *Cl. perfringens* dan selanjutnya memproduksi sitotoksin perusak jaringan (M'Sadeq et al. 2015; Keyburn et al. 2010).

*Clostridium perfringens* merupakan patogen ekstraseluler yang tingkat virulensinya sangat bergantung pada kemampuannya dalam memproduksi toksin (Praveen Kumar et al. 2019). Toksin utama yang diproduksi adalah toksin- $\alpha$  dan toksin NetB (*Necrotic enteritis toxin B-like*) (Keyburn et al. 2010; Uzal et al. 2014). Toksin- $\alpha$  memicu hidrolisa fosfolipid dan mengakibatkan disorganisasi membrane sel, sedangkan toksin NetB berperan dalam pembentukan luka pada sel epitel secara *in vitro*, namun ditengarai dapat pula

memicu lesi nekrotik dengan membentuk luka pada enterosit yang memicu kematian sel (Paiva & McElroy 2014; Keyburn et al. 2010).

Kerusakan mukosa usus karena infeksi koksidiosis dapat memicu efek immunosupresif yang berdampak pada ayam mudah terserang penyakit, karena pertahanan tubuh ayam tidak optimal (Kim et al. 2019). Diperkirakan 70% dari sistem imunitas unggas berlokasi pada saluran pencernaan. Kerusakan pada area ini menyebabkan peningkatan risiko masuknya organisme patogen (Peterson & Artis 2014). Oleh karena itu saluran pencernaan perlu diperhatikan kesehatannya dalam menjaga sistem kerja jaringan *gut-associated lymphoid tissue* atau GALT. Saluran pencernaan sepanjang usus halus dan usus besar mengandung jaringan limfoid yang tersebar di dalam epitel, lamina propia, atau berupa lempeng *Payer's patches*. GALT merupakan bagian dari jaringan limfoid yang berfungsi sebagai tempat respon kekebalan mukosa untuk menghasilkan antibodi dan menerima rangsangan respon imun mukosal (Tellez et al. 2014; Kim et al. 2019). Intestinal merupakan salah satu organ penting pada unggas, sebagai tempat penyerapan nutrisi dan disisi lain juga harus bertugas menghalangi patogen masuk ke dalam tubuh. Kerusakan jaringan mukosa usus menyebabkan aktivitas pencernaan dan penyerapan zat nutrisi tidak optimal, akibatnya terjadi defisiensi nutrisi sehingga pembentukan antibodi terganggu (Stefanello et al. 2020). Mukosa usus dan caeca tonsil merupakan bagian dari sistem kekebalan lokal di saluran pencernaan, kerusakan kedua organ ini mengakibatkan ayam lebih rentan terinfeksi penyakit lainnya termasuk *Cl. perfringens*. Di sepanjang jaringan mukosa usus terdapat jaringan limfoid penghasil antibodi (IgA), dimana IgA tersebut akan terakumulasi di dalam darah. Kerusakan mukosa usus akan mengakibatkan keluarnya plasma dan sel darah merah sehingga kadar IgA, sebagai benteng pertahanan di lapisan permukaan usus pun menurun (Forder et al. 2012; Kim et al. 2019).

Tingkat keparahan lesi penyakit enteritis nekrotika dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu susunan ransum ternak, stres penyebab immunosupresi dan perubahan lingkungan mikroba komensal (Moore 2016). Pakan dengan kandungan sumber protein asal hewan cukup tinggi seperti tepung ikan dan sapi, dan pemberian bahan pakan biji-bijian seperti gandum dapat menjadi faktor pemicu peningkatan populasi atau proliferasi kuman *Cl. perfringens* (Wu et al. 2014; Yang et al. 2016). Tata-laksana peternakan ayam yang kurang baik seperti kondisi kandang terlalu padat menyebabkan

ayam dalam keadaan stres dan mengalami immunosupresi yang menurunkan resistensi terhadap infeksi usus, sehingga mudah terserang enteritis nekrotika (Tsiouris et al. 2015).

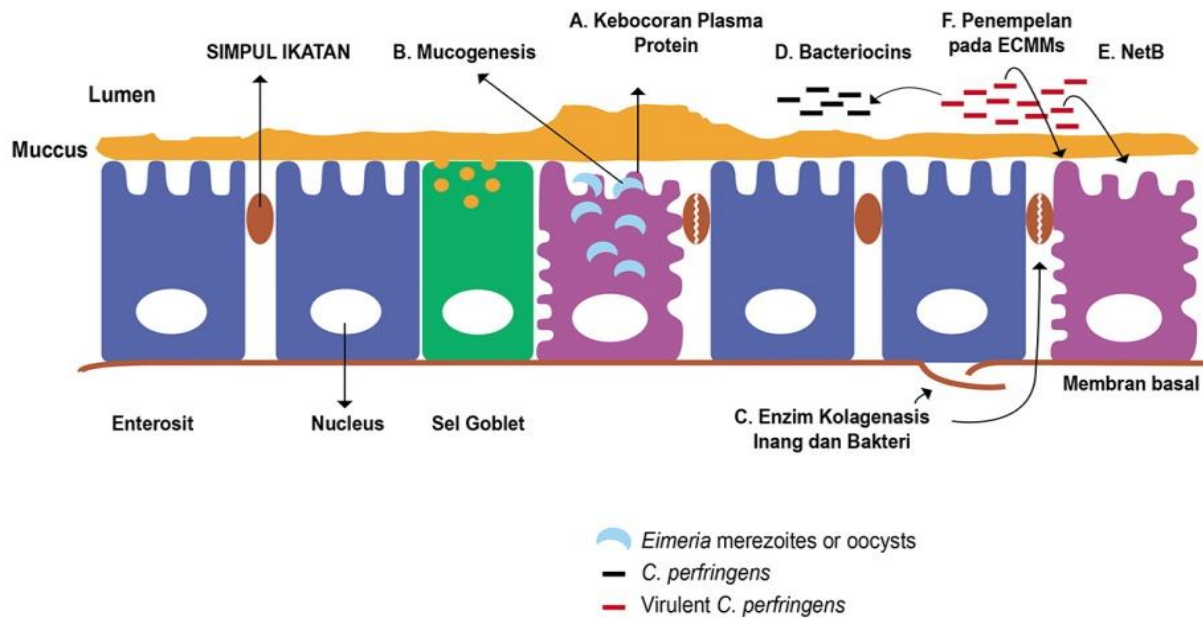
## PENCEGAHAN KOKSIDIOSIS DAN ENTERITIS NEKROTIKA

### Modulasi kesehatan intestinal

#### *Probiotik*

Koksidiosis dan enteritis nekrotika adalah penyakit saluran pencernaan ayam, untuk itu strategi penanggulangannya harus dilakukan secara komprehensif, terutama dengan menjaga kesehatan saluran pencernaan. Penelitian telah dilakukan tentang jenis imbuhan pakan alami sebagai pengganti antibiotik yang dicampurkan dalam sediaan pakan, seperti probiotik dan tanaman obat herbal (senyawa fitogenik) untuk menjaga dan meningkatkan kesehatan saluran pencernaan.

Penggunaan probiotik pada prinsipnya digunakan sebagai pengganti antibiotik atau sebagai pemacu pertumbuhan sehingga dapat dipakai sebagai bahan aditif. Sebagian besar probiotik yang digunakan sebagai bahan aditif untuk koksidiosis dan enteritis nekrotika adalah tergolong bakteri tidak berspora termasuk spesies *Lactobacillus* spp atau bakteri yang berspora yaitu *Bacillus* spp (Caly et al. 2015; Calik et al. 2019). Cao et al. (2018) menyatakan bahwa pemberian probiotik menggunakan bakteri *Bacillus* sp seperti *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis* dan *B. subtilis* dapat melindungi ayam pedaging dari infeksi penyakit dan dapat memperbaiki performans ayam. Probiotik tersebut ternyata juga berhasil untuk mengatasi infeksi dari mikroorganisme patogen seperti *E. coli* (Cao et al. 2013), *Salmonella enteritidis* (Park & Kim 2014) dan *Clostridium perfringens* (Wang et al. 2017). Bakteri-bakteri tersebut dapat mengurangi kemampuan mikroorganisme patogen dalam memproduksi toksin, mengurangi efek negatif yang diakibatkan adanya hambatan pakan karena probiotik mampu menstimulasi peningkatan ketersediaan zat makanan, merangsang produksi enzim pencernaan serta dihasilkannya vitamin dan substansi antimikrobal sehingga meningkatkan status kesehatan saluran pencernaan, akhirnya dapat memperbaiki performans ayam (Lei et al. 2015; Cao et al. 2018).



**Gambar 3.** Mekanisme enteritis nekrotika akibat infeksi *Clostridium perfringens* yang diinisiasi oleh infeksi koksidiosis pada ayam. **A.** Koksidiosis merusak sel epitelium usus dan sekresi plasma protein; **B.** Peningkatan sekresi cairan mukus di dalam usus (**A** dan **B**) merupakan kondisi yang baik untuk kolonisasi *Cl. Perfringens*; **C.** Koksidiosis menghasilkan enzim kolagenasis yang diproduksi oleh inang dan bakteri *Cl. perfringens* dan terjadi kerusakan mukosa usus ekstensif; **D.** *Cl. perfringens* memproduksi bakteriosin yang secara selektif menyebabkan pertumbuhan bakteri virulen lebih dominan; **E.** Toksin NetB menyebabkan nekrosis; dan **F.** *Cl. perfringens* akan melekat pada ECMMs (*extracellular matrix molecules*) yang mengalir ke lumen usus akibat koksidiosis (Timbermont et al 2011)

Probiotik *Bacillus amyloliquefaciens* dapat mengatasi masalah koksidiosis dengan cara menstimulasi sistem pertahanan lokal (saluran pencernaan) terbukti dengan lesi usus yang ringan dan vili usus yang tinggi (Tsukahara et al. 2018). Hasilnya menunjukkan bahwa ayam resisten terhadap infeksi *Eimeria maxima*. Sedangkan (Lee et al. 2010) menyatakan bahwa pemberian probiotik tersebut dapat efektif mengurangi efek buruk dari koksidiosis pada ayam, yang dibuktikan dengan berkurangnya lesi pada usus dan perbaikan panjang villi-villi usus sehingga penyerapan nutrisi tidak terganggu.

Penelitian oleh Latorre et al. (2015) menunjukkan bahwa probiotik *Bacillus* spp. dapat menurunkan kekentalan (viskositas) isi usus yang disebabkan oleh pakan ayam berbahan gandum dan meningkatkan populasi bakteri menguntungkan seperti *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus*, hal ini karena bakteri tersebut dapat memproduksi enzim xylanase dan amylase. Penggunaan preparat enzim pemecah karbohidrat seperti xylanase dan amylase dapat mengurangi kejadian enteritis nekrotika dan koksidiosis, karena berhasil menurunkan kekentalan (viskositas) isi usus yang disebabkan oleh pakan ayam berbahan gandum (Cozannet et al. 2016). Pemberian enzim xylanase yang dicampur dalam pakan ayam ternyata juga menyebabkan kenaikan galacto-

oligosaccharide, gluco-oligosaccharide dan manno-oligosaccharide dalam saluran pencernaan, sehingga meningkatkan populasi bakteri menguntungkan seperti *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* dan membantu pencernaan dan penyerapan nutrisi (Antonissen et al. 2014).

Penelitian oleh (Wang et al. 2017) menunjukkan bahwa pemberian *B. subtilis* dapat menekan infeksi *Cl. perfringens* dengan cara bersaing dengan mikroflora inang untuk sel-sel reseptor memperebutkan tempat pelekatan pada dinding usus dan nutrisi dari bahan makanan yang masuk untuk perkembangannya. Bakteri ini berspora dan mampu bertahan dalam tubuh inang, sebagai bukti bahwa bakteri tersebut mempunyai kriteria yang aman digunakan sebagai probiotik.

Penggunaan bakteri *Bacillus licheniformis* oleh Lin et al. (2017) dapat mengurangi proliferasi *Cl. perfringens*. Bakteri tersebut dapat melindungi mukosa usus dengan peningkatan jumlah yang signifikan dari sel limfosit intraepitelial (IEL) dari usus sehingga bertambah fungsi sistem imunnya. Selain itu *B. licheniformis* dengan konsentrasi  $8 \times 10^7$  CFU/gram dalam pakan ternyata dapat mengurangi keparahan lesi usus dan kematian akibat infeksi *Cl. perfringens*, efek ini lebih efektif dibanding pemberian antibiotik virginiamisin (Zhou et al. 2016).

Bakteri asam laktat *Lactobacillus johnsonii* terbukti dapat mengurangi kejadian enteritis nekrotika (Qing et al. 2017). Probiotik ini memberikan dampak menguntungkan dengan meningkatkan keseimbangan mikrobial dan menstimulasi perkembangan dari usus. Selain itu dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus* spp dalam jumlah yang banyak, sehingga selain menurunkan populasi bakteri *Cl. perfringens* juga menurunkan jumlah bakteri patogen lainnya seperti *Streptococcus* spp dan *Enterobacteriaceae*.

#### **Bahan aktif alami asal tanaman (fitogenik)**

Penambahan serbuk dan minyak atsiri daun *Artemisia annua* dalam pakan ayam yang secara alamiah terinfeksi oleh *E. tenella* menyebabkan kerusakan jaringan ususnya lebih ringan dibanding yang tidak diberi *A. annua*. Pemberian 17 ppm ekstrak daun *A. annua* dalam pakan mampu menurunkan jumlah ookista (74,18%), diikuti dengan perlakuan 34 ppm artemisinin (58,14%) dalam feses ayam yang diinfeksi *E. tenella* (Wiedosari & Wardhana 2017). Diduga karena minyak atsiri tanaman artemisin mengandung antioksidan tinggi dan antiradang yang kuat dalam menekan infeksi *E. tenella* (Del Cacho et al. 2010).

Minyak atsiri merupakan alternatif koksidoidal karena terbukti dapat langsung membunuh koksidia. Aktivitas antikoksidia atau antimikroba dari minyak atsiri dengan cara merusak dan mengubah konformasi dinding sel mikroba yang akan berpengaruh pada transport elektron, ion gradien, translokasi protein dan kehilangan kemiosmotik, sehingga menyebabkan kematian sel merozoit koksidia. Proses ini sangat penting karena secara tidak langsung akan mengurangi infeksi sekunder dari *Cl. perfringens* (Idris et al. 2016). Pengendalian koksidiosis pada ayam menggunakan tanaman herbal telah dibahas dan diuraikan secara jelas oleh Ekawasti & Martindah (2019).

Eid et al. (2018) menggunakan minyak atsiri yang berasal dari tanaman Thyme dan cengkeh dalam pakan dapat menekan jumlah *Cl. perfringens*, menaikkan bobot tubuh dan mempercepat pertumbuhan ayam. Minyak atsiri yang dipakai sebagai imbuhan pakan dapat mengurangi populasi bakteri patogen dengan langsung merusak sel membran bakteri, penetrasi ke dalam sel dan langsung membunuh bakteri (Lillehoj et al. 2018).

Bahan aktif polifenol yang diekstraksi dari kulit kayu tanaman magnolia dapat merangsang produksi enzimaldehid reduktase, katalase dan superoksida dismutase (SOD). Penggunaannya dalam pakan dapat membantu mempertahankan usus dari kerusakan selama cekaman oksidatif pada ayam yang diinfeksi *E. maxima* (koksidiosis) dan *Cl. perfringens* (enteritis

nekrotika), sehingga dapat meningkatkan permukaan mikrovili usus dan memperbaiki penyerapan nutrisi (Oh et al. 2018). Lee et al. (2013) menggunakan bahan aktif yang berasal dari campuran *Capsicum* sp dan *Curcuma longa* dalam pakan ayam yang diinfeksi *Cl. perfringens*, dapat memperbaiki performans ayam dengan kenaikan bobot tubuh, mengurangi lesi usus dan meningkatkan sistem imunitas.

#### **Manajemen pemeliharaan ayam**

Keberhasilan dalam pencegahan koksidiosis secara efektif dapat menekan secara signifikan kejadian enteritis nekrotika (Wu et al. 2014). Pemeliharaan ayam perlu dilakukan dengan program sanitasi dan tatalaksana yang baik untuk meningkatkan efektivitas penggunaan antikoksidia yang alami sebagai pengganti antibiotik di dalam pakan (Oh et al. 2018b). Namun pemberantasan penyakit hanya dengan sanitasi dan desinfeksi secara ketat tidak akan berhasil, karena ookista relatif tahan terhadap berbagai desinfektan dan ukuran ookista yang sangat kecil sehingga mudah tersebar melalui angin (Abdelrahman et al. 2014). Oleh karena itu, perlu memperhatikan kondisi lingkungan kandang seperti kelembaban *litter* atau alas kandang yang merupakan kondisi optimal untuk perkembang biakan *Eimeria* sp (Cahyaningsih 2012), sehingga ookista tidak bisa berkembang lebih lanjut. Sangat penting menjaga kebersihan kandang dan melakukan desinfeksi sebelum penempatan unggas.

Tata laksana peternakan yang buruk, contohnya seperti kandang yang terlalu padat, suhu yang terlalu dingin atau panas, ataupun pergantian ransum secara mendadak menyebabkan ayam menjadi stres (Tsiouris et al. 2015; Lara & Rostagno 2013). Stres pada ayam merupakan suatu reaksi fisiologis normal dalam rangka beradaptasi dengan situasi maupun perlakuan yang diterima oleh ayam. Kondisi stres di dalam tubuh ayam akan meningkatkan produksi hormon kortikosteron yang dapat menghambat organ kekebalan dalam menghasilkan antibodi. Hal tersebut akan memicu efek immunosupresif sehingga ayam mudah terserang penyakit terutama penyakit pencernaan (Lara & Rostagno 2013). Pergantian ransum secara mendadak atau pemberian ransum dengan kandungan protein dan energi yang terlalu tinggi mengakibatkan perubahan viskositas isi usus, hal tersebut juga dapat memicu terjadinya enteritis nekrotika (Wu et al. 2014; Yang et al. 2016).

#### **KESIMPULAN**

Koksidiosis dan enteritis nekrotika merupakan penyakit saluran pencernaan yang sering dijumpai pada peternakan ayam. Kedua penyakit ini saling terkait

dimana koksidiosis merupakan faktor predisposisi bagi penyakit enteritis nekrotika. Mengingat penyakit ini sulit dikendalikan, maka penanggulangan penyakit ini perlu dilakukan secara integratif melalui modulasi kesehatan saluran pencernaan dengan menggunakan probiotik dan senyawa fitogenik sebagai pengganti antibiotik, serta penerapan sanitasi dan tatalaksana peternakan yang baik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abbas RZ, Iqbal Z, Blake D, Khan MN, Saleemi MK. 2011. Anticoccidial drug resistance in fowl coccidia: The state of play revisited. *Worlds Poult Sci. J.* 67:337-349.
- Abdelrahman W, Mohnl M, Teichmann K, Doupovec B, Schatzmayr G, Lumpkins B, Mathis G. 2014. Comparative evaluation of probiotic and salinomycin effects on performance and coccidiosis control in broiler chickens. *Poult Sci.* 93:3002-3008.
- Abdul-Aziz T, Fletcher OJ, Barnes HJ. 2016. Avian histopathology. 4th ed. The American Association of Avian Pathologists. p. 329-334.
- Akhtar M, Irfan Anwar M, Iqbal Z, Muhammad F, Awais MM, Haq AU, Hiszczynska-Sawicka E. 2012. Immunological evaluation of two local isolates of *Eimeria tenella* gametocytes against coccidiosis in poultry. *Pak Vet J.* 32:77-80.
- Antonissen G, Van Immerseel F, Pasmans F, Ducatelle R, Haesebrouck F, Timmermont L, Vertinden M, Janssens GPJ, Eeckhout V, Eeckhout M, et al. 2014. The mycotoxin deoxynivalenol predisposes for the development of *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis in broiler chickens. *PLoS One.* 9:1-8.
- Assis RCL, Luns FD, Beletti ME, Assis RL, Nasser NM, Faria ESM, Cury MC. 2010. Histomorphometry and macroscopic intestinal lesions in broilers infected with *Eimeria acervulina*. *Vet Parasitol.* 168:185-189.
- Blake DP, Clark EL, Macdonald SE, Thenmozhi V, Kundu K, Garg R, Jatau ID, Ayoade S, Kawahara F, Moftah A, Reid AJ, Adebambo AO, Zapata RA, Arni S. R. Rao S, Thangaraj K, Banerjee PS, Dhinakar-Raj G, Raman M, Tomley FM 2015. Population, genetic, and antigenic diversity of the apicomplexan *Eimeria tenella* and their relevance to vaccine development. *Proc Natl Acad Sci USA.* 112:E5343-E5350.
- Blake DP, Tomley FM. 2014. Securing poultry production from the ever-present *Eimeria* challenge. *Trends Parasitol.* 30:12-19. doi: 10.1016/j.pt.2013.10.003.
- Bozkurt M, Giannenas I, Küçükyılmaz K, Christaki E, Florou-Paneri P. 2013. An update on approaches to controlling coccidia in poultry using botanical extracts. *Br Poult Sci.* 54:713-727.
- Del Cacho E, Gallego M, Francesch M, Quílez J, Sánchez-Acedo C. 2010. Effect of artemisinin on oocyst wall formation and sporulation during *Eimeria tenella* infection. *Parasitol Int.* 59:506-511. doi: 10.1016/j.parint.2010.04.001.
- Cahyaningsih U. 2012. Menurunkan jumlah skizon, mikrogamet. *Makrogamet.* 13:322-329.
- Calik A, Omara II, White MB, Li W, Dalloul RA. 2019. Effects of dietary direct fed microbial supplementation on performance, intestinal morphology and immune response of broiler chickens challenged with coccidiosis. *Front Vet Sci.* 6:1-8.
- Caly DL, D'Inca R, Auclair E, Drider D. 2015. Alternatives to antibiotics to prevent necrotic enteritis in broiler chickens: A microbiologist's perspective. *Front Microbiol.* 6:1-12.
- Cao GT, Zeng XF, Chen AG, Zhou L, Zhang L, Xiao YP, Yang CM. 2013. Effects of a probiotic, *Enterococcus faecium*, on growth performance, intestinal morphology, immune response, and cecal microflora in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88. *Poult Sci.* 92:2949-2955.
- Cao GT, Zhan XA, Zhang LL, Zeng XF, Chen AG, Yang CM. 2018. Modulation of broilers' caecal microflora and metabolites in response to a potential probiotic *Bacillus amyloliquefaciens*. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 102:e909-e917.
- Conway DP, McKenzie ME. 2007. Poultry coccidiosis: Diagnostic and testing procedures. New Jersey (USA): Blackwell Publishing. p. 18-32
- Cozannet P, Kidd MT, Neto RM. 2016. Complex rich in xylanase and arabinofuranosidase to enhance broiler feed digestibility. p. 1-8.
- Eid NM, Dahshan AM, El-Nahass E-S, Shalaby B, Ali A. 2018. Anticoccidial activity of the thyme and clove essential oils against experimentally induced necrotic enteritis in commercial broiler chickens. *Vet Sci Res Rev.* 4:25-34.
- Ekawasti F, Martindah E. 2019. Pengendalian koksidiosis pada ayam melalui pengobatan herbal. *Wartazoa.* 29:1-12.
- FAOSTAT. 2014. Livestock poultry production 2014 [Internet]. [Diakses pada 25 April 2020]. Tersedia dari. <http://faostat.fao.org/>.
- Fasina YO, Lillehoj HS. 2019. Characterization of intestinal immune response to *Clostridium perfringens* infection in broiler chickens. *Poult Sci.* 98:188-198.
- Forder REA, Nattrass GS, Geier MS, Hughes RJ, Hynd PI. 2012. Quantitative analyses of genes associated with mucin synthesis of broiler chickens with induced necrotic enteritis. *Poult Sci.* 91:1335-1341. doi: 10.3382/ps.2011-02062.
- Gilbert ER, Cox CM, Williams PM, McElroy AP, Dalloul RA, Keith Ray W, Barri A, Emmerson DA, Wong EA, Webb KE. 2011. *Eimeria* species and genetic background influence the serum protein profile of broilers with coccidiosis. *PLoS One.* 6.



- Györke A, Kalmár Z, Pop LM, Şuteu OL. 2016. The economic impact of infection with *Eimeria* spp. in broiler farms from Romania. *Rev Bras Zootec.* 45:273–280.
- Idris M, Abbas RZ, Masood S, Rehman T, Farooq U, Babar W, Hussain R, Raza A, Riaz U. 2016. The potential of antioxidant rich essential oils against avian coccidiosis. *Worlds Poult Sci J.* 73:89-104.
- Keyburn AL, Yan XX, Bannam TL, Van Immerseel F, Rood JI, Moore RJ. 2010. Association between avian necrotic enteritis and *Clostridium perfringens* strains expressing NetB toxin. *Vet Res.* 41:1-8.
- Khalique A, Zeng D, Shoaib M, Wang H, Qing X, Rajput DS, Pan K, Ni X. 2020. Probiotics mitigating subclinical necrotic enteritis (SNE) as potential alternatives to antibiotics in poultry. *AMB Express.* 10. doi: 10.1186/s13568-020-00989-6.
- Kim WH, Chaudhari AA, Lillehoj HS. 2019. Involvement of T Cell immunity in avian coccidiosis. *Front Immunol.* 10:1-8.
- Kiu R, Hall LJ. 2018. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerg Microbes Infect.* 7.
- Lal K, Bromley E, Oakes R, Prieto JH, Sanya J, Kurian D, Hunt L, Iii JRY, Wastling JM, Sinden RE, Tomley FM. 2010. Proteomic comparison of four *Eimeria tenella* life cycle stages. *Proteomics.* 9:4566-4576.
- Lara LJ, Rostagno MH. 2013. Impact of heat stress on poultry production. *Animals.* 3:356-369.
- Latorre JD, Hernandez-Velasco X, Kuttappan VA, Wolfenden RE, Vicente JL, Wolfenden AD, Bielke LR, Prado-Rebolledo OF, Morales E, Hargis BM, Tellez G. 2015. Selection of *Bacillus* spp. for cellulase and xylanase production as direct-fed microbials to reduce digesta viscosity and *Clostridium perfringens* proliferation using an in vitro digestive model in different poultry diets. *Front Vet Sci.* 2:1-8.
- Lee KW, Lillehoj HS, Jang SI, Li G, Lee SH, Lillehoj EP, Siragusa GR. 2010. Effect of *Bacillus*-based direct-fed microbials on *Eimeria maxima* infection in broiler chickens. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 33:105-110.
- Lee SH, Lillehoj HS, Jang SI, Lillehoj EP, Min W, Bravo DM. 2013. Dietary supplementation of young broiler chickens with Capsicum and turmeric oleoresins increases resistance to necrotic enteritis. *Br J Nutr.* 110:840-847.
- Lei X, Piao X, Ru Y, Zhang Hongyu, Péron A, Zhang Huifang. 2015. Effect of *Bacillus amyloliquefaciens*-based direct-fed microbial on performance, nutrient utilization, intestinal morphology and cecal microflora in broiler chickens. *Asian-Australasian J Anim Sci.* 28:239-246.
- Lillehoj H, Liu Y, Calsamiglia S, Fernandez-Miyakawa ME, Chi F, Cravens RL, Oh S, Gay CG. 2018. Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. *Vet Res.* 49:1-18.
- Lin Y, Xu S, Zeng D, Ni X, Zhou M, Zeng Y, Wang H, Zhou Y, Zhu H, Pan K, Li G. 2017. Disruption in the cecal microbiota of chickens challenged with *Clostridium perfringens* and other factors was alleviated by *Bacillus licheniformis* supplementation. *PLoS One.* 12:1-18.
- M'Sadeq SA, Wu S, Swick RA, Choct M. 2015. Towards the control of necrotic enteritis in broiler chickens with in-feed antibiotics phasing-out worldwide. *Anim Nutr.* 1:1-11.
- Moore RJ. 2016. Necrotic enteritis predisposing factors in broiler chickens. *Avian Pathol.* 45:275-281.
- Nilsson O, Greko C, Bengtsson B, Englund S. 2012. Genetic diversity among VRE isolates from Swedish broilers with the coincidental finding of transferrable decreased susceptibility to narasin. *J Appl Microbiol.* 112:716-722.
- Oh S, Gadde UD, Bravo D, Lillehoj EP, Lillehoj HS. 2018. Growth-Promoting and Antioxidant Effects of Magnolia Bark Extract in Chickens Uninfected or Co-Infected with *Clostridium perfringens* and *Eimeria maxima* as an Experimental Model of Necrotic Enteritis. *Curr Dev Nutr.* 2:1-10.
- Paiva D, McElroy A. 2014. Necrotic enteritis: Applications for the poultry industry. *J Appl Poult Res.* 23:557-566. doi: 10.3382/japr.2013-00925.
- Park JH, Kim IH. 2014. Supplemental effect of probiotic *Bacillus subtilis* B2A on productivity, organ weight, intestinal *Salmonella* microflora, and breast meat quality of growing broiler chicks. *Poult Sci [Internet].* 93:2054–2059. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2013-03818>
- Peterson LW, Artis D. 2014. Intestinal epithelial cells: Regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol.* 14:141–153.
- Praveen Kumar N, Vinod Kumar N, Karthik A. 2019. Molecular detection and characterization of *Clostridium perfringens* toxin genes causing necrotic enteritis in broiler chickens. *Trop Anim Health Prod.* 51:1559-1569.
- Qing X, Zeng D, Wang H, Ni X, Liu L, Lai J, Khalique A, Pan K, Jing B. 2017. Preventing subclinical necrotic enteritis through *Lactobacillus johnsonii* BS15 by ameliorating lipid metabolism and intestinal microflora in broiler chickens. *AMB Express.* 7.
- Quiroz-Castañeda RE, Dantán-González E. 2015. Control of avian coccidiosis: Future and present natural alternatives. *Biomed Res Int.* 2015.
- Skinner JT, Bauer S, Young V, Pauling G, Wilson J. 2010. An Economic Analysis of the Impact of Subclinical (Mild) Necrotic Enteritis in Broiler Chickens. *Avian Dis Dig.* 5:e39-e40.

- Stanley D, Wu SB, Rodgers N, Swick RA, Moore RJ. 2014. Differential responses of cecal microbiota to fishmeal, *Eimeria* and *Clostridium perfringens* in a necrotic enteritis challenge model in chickens. *PLoS One*. 9.
- Stefanello C, Rosa DP, Dalmoro YK, Segatto AL, Vieira MS, Moraes ML, Santin E. 2020. Protected Blend of Organic Acids and Essential Oils Improves Growth Performance, Nutrient Digestibility, and Intestinal Health of Broiler Chickens Undergoing an Intestinal Challenge. *Front Vet Sci*. 6:1-10.
- Tellez G, Shivaramaiah S, Barta J, Hernandez-Velasco X, Hargis B. 2014. Coccidiosis: recent advancements in the immunobiology of *Eimeria* species, preventive measures, and the importance of vaccination as a control tool against these Apicomplexan parasites. *Vet Med Res Reports*. 5:23-34.
- Timbermont L, Haesebrouck F, Ducatelle R, Van Immerseel F. 2011. Necrotic enteritis in broilers: An updated review on the pathogenesis. *Avian Pathol*. 40:341-347.
- Tsiouris V, Georgopoulou I, Batzios C, Pappaioannou N, Ducatelle R, Fortomaris P. 2015. The effect of cold stress on the pathogenesis of necrotic enteritis in broiler chicks. *Avian Pathol*. 44:430-435.
- Tsukahara T, Inoue R, Nakayama K, Inatomi T. 2018. Inclusion of *Bacillus amyloliquefaciens* strain TOA5001 in the diet of broilers suppresses the symptoms of coccidiosis by modulating intestinal microbiota. *Anim Sci J*. 89:679-687.
- Uzal FA, Freedman JC, Shrestha A, Theoret JR, Garcia J, Awad MM, Adams V, Moore RJ, Rood JJ, McClane BA. 2014. Towards an understanding of the role of *Clostridium perfringens* toxins in human and animal disease. *Future Microbiol*. 9:361-377.
- Wade B, Keyburn A. 2015. The true cost of necrotic enteritis. *Poult World Internet*. [Diakses pada 10 April 2020]. Tersedia dari: <http://www.poultryworld.net/Meat/Articles/2015/10/The-true-cost-of-necrotic-enteritis-2699819W/>
- Wang H, Ni X, Qing X, Liu L, Lai J, Khalique A, Li G, Pan K, Jing B, Zeng D. 2017. Probiotic enhanced intestinal immunity in broilers against subclinical necrotic enteritis. *Front Immunol*. 8:1-14.
- Wiedosari E, Wardhana AH. 2017. Anticoccidial activity of Artemisinin and Extract of *Artemisia annua* leaves in chicken infected by *Eimeria tenella*. *JITV*. 22:196.
- Wilson KM, Chasser KM, Duff AF, Briggs WN, Latorre JD, Barta JR, Bielke LR. 2018. Comparison of multiple methods for induction of necrotic enteritis in broilers. I. *J Appl Poult Res*. 27:577-589.
- Wu SB, Stanley D, Rodgers N, Swick RA, Moore RJ. 2014. Two necrotic enteritis predisposing factors, dietary fishmeal and *Eimeria* infection, induce large changes in the caecal microbiota of broiler chickens. *Vet Microbiol*. 169:188-197. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.01.007.
- Yang Y, Wang Q, Diarra MS, Yu H, Hua Y, Gong J. 2016. Functional assessment of encapsulated citral for controlling necrotic enteritis in broiler chickens. *Poult Sci*. 95:780-789.
- Zhou M, Zeng D, Ni X, Tu T, Yin Z, Pan K, Jing B. 2016. Effects of *Bacillus licheniformis* on the growth performance and expression of lipid metabolism-related genes in broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *Lipids Health Dis*. 15:1-10.