

SKRIPSI

**PENGARUH PROBIOTIK TERHADAP DIARE
DAN HASIL UJI BAKTERIOLOGI *Salmonella pullorum*
PADA ANAK AYAM**



OLEH :

FITRI HAMIDAH

SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 8**

**PENGARUH PROBIOTIK TERHADAP DIARE DAN HASIL UJI
BAKTERIOLOGI *Salmonella pullorum* PADA ANAK AYAM**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

FITRI HAMIDAH

NIM. 069311935

Menyetujui,

Komisi Pembimbing,



Dr. Roostita Balia, M.App.Sc., Drh.

Pembimbing Pertama



Prof. Dr. H. Soehartojo H., M.Sc., Drh.

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui,
Panitia Penguji



Nenny Hariani, M.Si., Drh

Ketua



Wiwik Tyasningsih, M.Kes., Drh.

Sekretaris



Bambang Sasongko T., M.S., Drh.

Anggota



Dr. Roostita Balia, M.App.Sc., Drh.

Anggota



Prof. Dr. H. Soehartojo H., M.Sc., Drh.

Anggota

Surabaya, 24 Agustus 1998

Fakultas Kedokteran Hewan,

Universitas Airlangga,

Dekan,



Dr. Ismudiono, M.S., Drh.

NIP. 130687 97

PENGARUH PROBIOTIK TERHADAP DIARE DAN HASIL UJI BAKTERIOLOGI *Salmonella pullorum* PADA ANAK AYAM

Fitri Hamidah

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh probiotik terhadap diare dan hasil uji bakteriologi *Salmonella pullorum* pada anak ayam.

Anak ayam umur 10 hari sebanyak 24 ekor, dibagi secara acak ke dalam empat kelompok perlakuan. Masing-masing anak ayam mendapat infeksi *Salmonella pullorum* secara oral dengan dosis 10 ID₅₀ yang mengandung 2,89 . 10^{5,5} sel/mililiter.

Probiotik diberikan secara oral melalui air minum dengan dosis 1 gram/liter selama tujuh hari berturut-turut pada semua kelompok perlakuan kecuali kontrol. Pada perlakuan yang pertama diberikan mulai hari ke nol setelah infeksi, perlakuan ke dua diberikan mulai hari ke empat setelah infeksi dan perlakuan ke tiga diberikan mulai hari ke delapan setelah infeksi, sedangkan untuk perlakuan kontrol tanpa probiotik.

Pengamatan dilakukan terhadap lama kesembuhan diare anak ayam serta hasil isolasi dan identifikasi bakteriologi *Salmonella pullorum* dari caecum anak ayam pada semua perlakuan.

Berdasarkan hasil Uji Kruskal-Wallis diketahui bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan ($p < 0,01$). Setelah dilakukan Uji Pasangan Berganda Z dengan signifikan 5%, diketahui bahwa pada perlakuan pertama berbeda nyata dengan perlakuan kontrol ($p < 0,05$) tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lain ($p > 0,05$).

Berdasarkan hasil uji bakteriologi dari caecum anak ayam diketahui bahwa pada kelompok perlakuan ke dua, ke tiga dan kelompok kontrol, masih ditemukan pertumbuhan bakteri *Salmonella pullorum*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah , S.W.T. yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul : Pengaruh Probiotik terhadap Diare dan Hasil Uji Bakteriologi *Salmonella pullorum* pada Anak Ayam.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi sebagian persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada Dr. Roostita Balia, M.App.Sc., Drh. selaku pembimbing pertama dan Prof Dr. H. Soehartojo H, M.Sc., Drh. selaku pembimbing kedua yang selalu memberikan bimbingan, saran dan nasehat yang sangat bermanfaat bagi terselesaikannya penulisan skripsi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada Bapak, Ibu dan Kakakku tercinta yang telah memberikan dorongan, semangat serta doa restu, hingga studi ini terselesaikan. Tak lupa pula penulis sampaikan terima kasih kepada PT. Romindo Primavetcom serta semua pihak yang ikut membantu serta memberikan sarana dan tempat yang sangat berarti bagi terselesaikannya penulisan skripsi ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, walaupun demikian penulis berharap semoga penulisan skripsi ini bermanfaat dan

dapat menambah sumbangan pengetahuan bagi mereka yang membutuhkan.

Surabaya, Agustus 1998

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Masalah	1
I.2. Perumusan Masalah	3
I.3. Tujuan Penelitian	3
I.4. Landasan Teori	3
I.5. Hipotesis Penelitian	4
I.6. Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
II.1. Tinjauan Penyakit Pullorum	6
II.1.1. Etiologi dan Morfologi	6
II.1.2. Penyebaran dan Cara Penularan Penyakit	6
II.1.3. Sifat Biokimiawi	7
II.1.4. Hewan Terinfeksi	8
II.1.5. Gejala Klinis	9
II.1.6. Patologi Anatomis	9
II.1.7. Diagnosis Penyakit	10
II.1.8. Pengobatan dan Pengendalian	11
II.2. Tinjauan tentang Probiotik	11
II.2.1. Definisi Probiotik	11
II.2.2. Pemilihan Jenis Bakteri	12
II.2.3. Identifikasi Bakteri	13
II.2.4. Mekanisme Kerja	14
II.2.5. Keamanan Probiotik	17
BAB III. MATERI DAN METODE	18
III.1. Waktu dan Tempat Penelitian	18
III.2. Materi Penelitian	18
III.2.1. Bahan-bahan yang Digunakan	18
III.2.2. Alat-alat yang Digunakan	19
III.3. Metode Penelitian	19
III.3.1. Persiapan	19
III.3.2. Isolasi dan Identifikasi <i>Salmonella pullorum</i>	20
III.3.3. Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Salmonella pullorum</i>	22
III.3.4. Pengenceran dan Jumlah Bakteri	22
III.3.5. Sampel Anak Ayam	23
III.3.6. Cara Menginfeksi Anak Ayam	23
III.3.7. Teknik Bedah Bangkai	24

III.3.8. Uji Bakteriologi <i>Salmonella pullorum</i> dari Caecum Anak Ayam	24
III.4. Perlakuan Penelitian	25
III.5. Parameter yang Diamati	26
III.6. Rancangan Penelitian dan Analisis Data	26
BAB IV. HASIL PENELITIAN	28
IV.1. Interval Lama Kesembuhan Diare Anak Ayam	28
IV.2. Hasil Uji Bakteriologi	29
BAB V. PEMBAHASAN	31
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	36
VI.1. Kesimpulan	36
VI.2. Saran	37
BAB VII. RINGKASAN	38
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-rata Rank Interval Lama Kesembuhan Diare (hari) Anak Ayam yang Diinfeksi <i>Salmonella pullorum</i> pada Masing-masing Perlakuan	28
2. Hasil Uji Biokimia terhadap Koloni Bakteri yang Berhasil Diisolasi Dalam Media SSA	29
3. Hasil Isolasi <i>Salmonella pullorum</i> dari Caecum Anak Ayam dalam Media SSA pada Masing-masing Perlakuan	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Interval Lama Kesembuhan Diare Anak Ayam yang Diinfeksi <i>Salmonella pullorum</i> pada Masing-masing Perlakuan	42
2. Analisis Statistik Interval Lama Kesembuhan Diare Anak Ayam yang Diinfeksi <i>Salmonella pullorum</i>	42
3. Uji Pasangan Berganda Z dengan Taraf Signifikan 5%	45
4. Gambar-gambar Penelitian	47
5. Skema Pengenceran Suspensi Bakteri <i>Salmonella pullorum</i>	48
6. Komposisi Acid PAK 4 Way	49
7. Tabel χ^2	50
8. Tabel Z	51

BAB I

PENDAHULUAN

L1. Latar Belakang Masalah

Persaingan diantara bidang usaha peternakan unggas di tanah air dalam rangka mensuplai kebutuhan masyarakat akan protein hewani, mendorong para peternak maupun *breeder* untuk meningkatkan mutu dari produk-produk yang dihasilkan baik dalam kualitas maupun kuantitasnya.

Produk-produk ternak yang dihasilkan agar dapat diterima oleh masyarakat dengan adanya krisis moneter seperti saat ini mengalami persaingan yang ketat, oleh karena itu mereka harus mampu meningkatkan dan memperbaiki pengelolaan dalam usaha peternakannya. Hal lain yang tidak kalah penting adalah usaha dalam pencegahan dan pengendalian suatu penyakit. Hal ini disebabkan karena besar sekali kemungkinan suatu peternakan unggas terjangkit oleh suatu penyakit, sehingga merupakan ancaman kerugian yang besar bagi peternakan tersebut.

Salah satu penyakit yang menyerang ayam dan sangat merugikan adalah penyakit Pullorum yang disebabkan oleh *Salmonella pullorum*. Kematian tertinggi pada penyakit ini terutama terjadi pada anak ayam, walaupun pada ayam dewasa kematian tersebut jarang terjadi. Disamping itu penyakit Pullorum juga dapat menyebabkan gangguan produksi, baik berupa penurunan laju pertambahan berat badan ataupun penurunan produksi telur disertai dengan menurunnya daya tetas telur (Biester dan Schwartz, 1965; Hofstad, 1984).

Kejadian penyakit Pullorum tentu saja sangat meresahkan para peternak, khususnya peternakan pembibitan ayam (*breeding farm*) karena kerugian yang ditimbulkan tidak sedikit. Pemerintah melalui Dirjen Peternakan dengan tegas melarang dikeluarkannya telur tetas dan ayam baik yang mati maupun yang hidup apabila dalam perusahaan diteraunkan reaktor Pullorum (Rumawas, 1976; Anonimus, 1981). Hal ini bisa dipahami karena *breeding farm* merupakan pemasok terbesar anak ayam umur satu hari (DOC). Jadi apabila produk yang dihasilkan oleh *breeding farm* tersebut telah tercemar bakteri *Salmonella pullorum* maka penyebaran penyakit ini akan cepat meluas.

Berbagai tindakan pengendalian dan pencegahan terhadap penyakit Pullorum telah dilakukan, antara lain dengan meningkatkan kebersihan kandang dan sanitasi lingkungan maupun dengan jalan membangun imunitas tubuh ayam melalui pemberian vaksinasi dan obat-obatan lainnya dengan dosis prophylaksis. Pengobatan terhadap ayam yang terinfeksi *Salmonella pullorum* masih banyak dilakukan terutama oleh peternakan yang berskala kecil, walaupun tindakan tersebut belum banyak membawa hasil yang memuaskan.

Pada akhir-akhir ini, mulai diperkenalkan produk probiotik yang mampu memproduksi zat-zat yang berfungsi sebagai agen antibakterial tanpa menimbulkan residu dalam jaringan tubuh ternak dan resistensi bakteri patogen. Hal ini sering terjadi pada pengobatan dengan menggunakan antibiotik. Berdasarkan beberapa hasil penelitian membuktikan bahwa probiotik dapat juga digunakan sebagai pemacu pertumbuhan ayam pedaging, ayam petelur dan sapi perah (Soeharsono, 1997).

I.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut diatas, timbul pertanyaan:

1. Bagaimanakah pengaruh probiotik terhadap diare anak ayam yang mendapat infeksi *Salmonella pullorum* secara oral, apabila probiotik tersebut diberikan selama tujuh hari berturut-turut mulai hari ke nol, ke empat dan ke delapan setelah infeksi.
2. Apakah pemberian probiotik pada anak ayam tersebut, dapat menghilangkan infeksi bakteri *Salmonella pullorum* berdasarkan hasil uji bakteriologi.

I.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh probiotik terhadap diare dan hasil uji bakteriologi *Salmonella pullorum* pada anak ayam.

I.4. Landasan Teori

Pullorum adalah salah satu penyakit bakterial ganas yang menyerang unggas terutama ayam yang disebabkan oleh *Salmonella pullorum*. Hal ini merupakan tantangan tersendiri bagi dunia peternakan unggas, mengingat bahwa penyakit tersebut dapat menyerang ayam semua umur bahkan dapat ditularkan secara vertikal (Hofstad, 1984; Akoso, 1993).

Beberapa jenis sulfonamid, antibiotik dan antibakterial lain hanya efektif dalam menekan angka kematian tetapi tidak menghilangkan infeksi sama sekali (Anonimus, 1981). Efek samping yang ditimbulkan sangat besar, karena dapat menyebabkan

resistensi bakteri patogen serta memungkinkan adanya residu antibiotik dalam produk ternak yang dapat membahayakan konsumen (Anonimus, 1995). Oleh karena itu perlu dicobakan alternatif lain, yaitu penggunaan probiotik sebagai pengobatan alternatif yang tidak membahayakan dan mempunyai beberapa kelebihan yang tidak didapatkan pada pengobatan dengan menggunakan antibiotik dan obat-obatan lainnya.

Probiotik merupakan bakteri hidup non patogen yang mampu berkolonisasi di dalam usus, menghasilkan asam laktat, asam asetat dan asam organik lainnya yang dapat menyebabkan penurunan pH di dalam saluran pencernaan. Probiotik juga mampu menghasilkan bakteriosin sebagai bahan antibakterial yang mampu menghambat pertumbuhan, membunuh dan menggantikan lokasi bakteri patogen tersebut kemudian mengeluarkannya dari saluran pencernaan (Ray, 1996; Soeharsono, 1997).

L5. Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Probiotik yang diberikan selama tujuh hari berturut-turut mulai hari ke nol setelah infeksi *Salmonella pullorum* secara oral, dapat mencegah diare anak ayam.
2. Probiotik yang diberikan selama tujuh hari berturut-turut mulai hari ke empat dan ke delapan setelah infeksi, dapat menyembuhkan diare anak ayam.
3. Probiotik yang diberikan selama tujuh hari berturut-turut mulai hari ke nol, ke empat dan ke delapan setelah infeksi, dapat menghilangkan bakteri *Salmonella pullorum* pada anak ayam.

1.6. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada peternak tentang pengaruh probiotik dalam peranannya terhadap kesembuhan diare anak ayam yang mendapat infeksi *Salmonella pullorum* secara oral. Sehingga pada masa mendatang pemakaian probiotik dapat lebih luas, untuk meringankan peternakan yang terjangkit penyakit Pullorum tersebut. Hal ini disebabkan karena pada pengobatan dengan menggunakan preparat sulfa, antibiotik maupun khemoterapi lainnya dapat menimbulkan masalah baru, diantaranya yaitu dengan adanya residu pada produk ternak yang dapat membahayakan konsumen serta terjadinya resistensi bakteri patogen. Sedangkan dengan pemakaian produk probiotik tidak menimbulkan masalah tersebut diatas, bahkan produktivitas ternak dapat ditingkatkan dengan pemberian probiotik, hal ini merupakan suatu keuntungan tersendiri bagi para peternak.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tinjauan Penyakit Pullorum

II.1.1. Etiologi dan Morfologi

Penyakit Pullorum disebabkan oleh agen bakterial yang digolongkan dalam genus *Salmonella* dari spesies *Salmonella pullorum* (Gordon dan Jordan, 1982).

Salmonella pullorum merupakan bakteri berbentuk seperti batang dengan ukuran panjang 1-2 μm dan lebar 0,3-0,5 μm serta ujungnya membulat. Bakteri ini bersifat gram negatif, non motil, tidak berspora dan fakultatif anaerob. Menurut Biester & Schwartz (1965) serta Hofstad (1984), bakteri ini tumbuh baik pada suhu 37°C dan pada agar ekstrak daging dengan pH 7,0–7,2 memperlihatkan koloni yang halus, tidak mengeluarkan sekret, homogen, jernih serta tembus pandang.

II.1.2. Penyebaran dan Cara Penularan Penyakit

Infeksi *Salmonella pullorum* telah tersebar luas di Indonesia dan selalu bersifat akut pada anak-anak ayam, sedangkan pada ayam dewasa umumnya bersifat kronis. Penyakit ini di luar negeri disebut *Bacillary White Diarrhea*, sedangkan di Indonesia disebut diare putih anak ayam atau biasa juga disebut sebagai penyakit berak kapur (Ressang, 1984).

Menurut Akoso (1993), penyakit ini pertama kali dilaporkan oleh Rettger pada tahun 1900. Setelah berakhirnya Perang Dunia I, penyakit Pullorum sudah tersebar luas di Eropa, Amerika dan Asia (Hofstad, 1984).

Penularan *Salmonella pullorum* terutama terjadi secara transovarial atau melalui telur, sedangkan penyebarannya dapat berlangsung di dalam pengeraman, penetasan, kotak anak ayam atau kandang, baik secara oral, bersama makanan dan minuman maupun secara aerogen melalui udara yang tercemar oleh kotoran hewan, bulu, dapat pula melalui alat penetas yang terinfeksi bakteri *Salmonella pullorum* (Akoso, 1993).

II.1.3. Sifat Biokimiawi

Salmonella pullorum tumbuh pada suhu 37°C dan bersifat aerob atau fakultatif anaerob. Sifat biokimiawi *Salmonella pullorum* adalah sebagai berikut : membentuk hidrogen sulfida (H₂S), membentuk asam dan gas dari glukosa, memfermentasi manosa tetapi tidak memfermentasi laktosa dan sukrosa. Maltosa jarang dapat difermentasi. Sementara itu, *Salmonella pullorum* tidak mempunyai enzim urease dan menggunakan unsur karbon dari sumber sitrat (Hofstad, 1984; Anonimus 1992).

Isolasi *Salmonella pullorum* membutuhkan media selektif. Bahan biakan yang biasa digunakan adalah Salmonella Shigella Agar (SSA), Mac Conkey Agar (MCA) dan Endo Agar. Pertumbuhan *Salmonella pullorum* pada ketiga media ini membentuk koloni yang halus, bulat, tembus cahaya dan tidak berwarna. Bila koloni yang tumbuh keadaannya berdesakan, biasanya memiliki diameter yang kecil yaitu kurang dari 1 mm, tetapi pada koloni yang bersifat tunggal diameternya dapat mencapai 3 mm atau lebih. Pada media Triple Sugar Iron Agar (TSIA), adanya pertumbuhan *Salmonella pullorum* pada bagian yang miring memperlihatkan perubahan warna merah (basa) dan bagian yang tegak berwarna kuning (asam), terjadi pembentukan H₂S yang ditandai dengan adanya warna hitam dan pembentukan gas ditandai dengan

pecahnya media atau terangkatnya dasar media pada tabung. Pertumbuhan *Salmonella pullorum* pada media Sulfid Indol Motility (SIM) ditandai dengan adanya garis putih pada bekas tusukan (sifat non motil), terdapat bentukan berwarna hitam yang menunjukkan adanya pembentukan H₂S sedangkan pada Uji Indol, hasilnya negatif (Jang *et al.*, 1976; Hofstad, 1984).

II.1.4. Hewan Terinfeksi

Ayam merupakan hewan yang paling sering terinfeksi *Salmonella pullorum* terutama anak ayam sampai dengan umur empat minggu. Ayam dibawah umur 14 hari bila terserang penyakit ini akan berakibat kematian, sedangkan ayam yang berumur lebih tua biasanya lebih tahan terhadap penyakit ini. Ayam yang berhasil sembuh dari penyakit ini selanjutnya akan menjadi pembawa penyakit (karier), dan seumur hidup di dalam tubuhnya selalu mengandung bibit penyakit (Akoso, 1993). Selain pada ayam, bakteri *Salmonella pullorum* juga menyerang kalkun, itik dan burung merpati. Kejadian Pullorum pada burung merpati mengakibatkan kerugian yang sama seperti pada ayam yaitu terjadinya mortalitas yang tinggi pada anak burung dan burung dewasa, turunnya produksi telur, terhambatnya pertumbuhan dan juga penurunan kualitas daging sehingga sangat merugikan bagi peternak (Hofstad, 1984).

Ayam yang terinfeksi Pullorum dapat dipotong dan dikonsumsi oleh manusia asal kondisi ayam tersebut masih memenuhi syarat ditinjau dari segi estetika. Daging dan telurnya boleh diperdagangkan setelah direbus dan dimasak, sedangkan jerohan dan sisa pemotongan lainnya harus dibakar atau dikubur (Akoso, 1993).

II.1.5. Gejala Klinis

Menurut Ressang (1984) dan Akoso (1993), masa inkubasi *Salmonella pullorum* pada ayam adalah 2-5 hari. Anak ayam yang terinfeksi, akan terjadi kematian lebih cepat dan gejala klinis tidak begitu jelas. Bila penyakit berjalan lama akan diikuti oleh munculnya gejala klinis secara progresif seperti anak ayam akan menggerombol pada suatu tempat, tampak lemah atau tidak bergairah, bersuara terus-menerus, terjadi pembesaran pada bagian perut dan diare putih atau berak kapur (Sainsbury, 1992).

Pada beberapa kasus yang kronis, anak ayam akan mengalami gangguan pertumbuhan dan menjadi kerdil, diare, kelemahan dan pembesaran persendian kaki. Gejala yang spesifik adalah terjadinya kematian pada anak ayam yang baru menetas atau setelah dikeluarkan dari mesin tetas (Hofstad, 1984; Sainsbury, 1992).

Pada ayam dewasa, gejala penyakit sukar dilihat tetapi kadang-kadang terjadi depresi, kekurusan, anemia, diare diikuti oleh produksi telur yang menurun (Anonimus, 1981). Ayam penderita Pullorum yang sembuh, akan bertindak sebagai karier dengan produksi dan daya tetas telur yang rendah (Hofstad, 1984; Akoso, 1993).

II.1.6. Patologi Anatomi

Anak ayam umur satu hari yang mati karena penyakit Pullorum, perubahan pada alat tubuhnya kurang jelas, sedangkan pada anak ayam yang lebih tua hatinya membesar dengan konsistensi yang lunak. Beberapa bagian dari hati tersebut berubah warna menjadi kuning kehijauan kadang-kadang disertai nekrosis secara milier pada permukaannya. Selain itu hati sering diliputi eksudat berfibrin yang meliputi organ-

organ lain disekitar perut, pada lapisan subkapsular dan parenkim hati sering terlihat titik-titik darah. Pecahnya pembuluh darah di hati adalah suatu keadaan yang sering terjadi sehingga darah mengisi rongga perut. Jantung mengalami dilatasi atau distorsi disertai jejas berbentuk nodula-nodula berwarna putih keabu-abuan dan perikardium mengalami penebalan disertai penimbunan cairan fibrin di dalam maupun di luar perikardium (Anonimus, 1981; Hofstad, 1984).

Pada ayam betina dewasa, ovariumnya tampak mengalami perubahan yaitu adanya beberapa folikel yang atrofi, telur berwarna kehijau-hijauan dan tidak dapat tumbuh secara sempurna serta peradangan. Pada yang jantan, terjadi orkhitis dan testes mengalami pengecilan. Jantung mengalami perikarditis dan otot jantung tampak berbenjol. Terjadi nekrosa pada jaringan hati, demikian juga pada selaput lendir caecum. Pada ayam muda, dapat terjadi radang usus diikuti oleh diare (Ressang, 1984; Akoso, 1993).

II.1.7. Diagnosis Penyakit

Diagnosis Pullorum pada anak ayam dapat dilakukan dengan melihat gejala klinis dan perubahan patologi anatomisnya. Untuk keberhasilan diagnosa yang lebih tepat, harus dilakukan pengujian secara bakteriologis yaitu dengan melakukan isolasi dan identifikasi bakteri penyebab infeksi dari darah atau jaringan alat tubuh yang terinfeksi (Biester dan Schwartz, 1965; Hofstad, 1984). Walaupun pengujian secara serologis dapat juga dilakukan untuk mendeteksi adanya penyakit Pullorum, tetapi hasilnya kurang memuaskan karena penyakit infeksi lainnya seperti Fowl Typhoid

dan Paratyphoid juga memberikan hasil yang positif bila diuji dengan antigen Pullorum (Biester dan Schwartz, 1965).

II.1.3. Pengobatan dan Pengendalian

Usaha pengendalian dan pemberantasan penyakit Pullorum melalui pengobatan tidak begitu memuaskan. Beberapa jenis sulfonamid, antibiotik dan antibakterial yang lain hanya efektif dalam menekan angka kematian tetapi tidak menghilangkan infeksi sama sekali. Oleh karena itu, tindakan pencegahan penyakit adalah sangat penting, yang terutama ditekankan pada sanitasi dan tata laksana yang meliputi sanitasi kandang, makanan, lingkungan, minuman, fumigasi peralatan dan juga seleksi pemasukan ternak harus benar-benar bebas dari bakteri *Salmonella pullorum* (Anonimus, 1981).

II.2. Tinjauan Tentang Probiotik

II.2.1. Definisi Probiotik

Konsep probiotik telah digunakan sejak tahun 1900-an, tetapi baru benar-benar terbuka luas setelah Lily dan Sillwell menggunakannya pada tahun 1965. Pada saat itu mereka mengartikan istilah probiotik sebagai stimulasi terhadap pertumbuhan suatu bakteri lain. Dengan kata lain probiotik merupakan istilah lawan kata dari antibiotik.

Bersamaan dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, maka makna probiotik menjadi lebih luas. Menurut Fuller (1989) yang dikutip oleh Soeharsono (1997), mendefinisikan probiotik sebagai imbuhan makanan yang terdiri dari bakteri hidup yang secara menguntungkan mempengaruhi induk semang melalui perbaikan

keseimbangan flora normal di dalam saluran pencernaan. Stark dan Wilkinson (1989) yang juga dikutip oleh Soeharsono (1997), membuat definisi bahwa probiotik adalah produk yang mengandung bakteri hidup dan non patogen yang dapat memperbaiki laju pertumbuhan, efisiensi konversi ransum dan meningkatkan kesehatan hewan

Menurut Winarno (1997), istilah probiotik berarti suatu preparat yang terdiri dari bakteri hidup yang dimasukkan ke dalam tubuh manusia atau ternak secara oral yang diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan manusia dan ternak dengan cara memperbaiki sifat-sifat yang dimiliki oleh flora normal yang tinggal di dalam tubuh manusia atau ternak yang dimaksud. Oleh karena itu, dengan berbagai keuntungan yang berkaitan dengan kesehatan manusia dan hewan maka bakteri tersebut sering disebut sebagai probiotik.

II.2.2. Pemilihan Jenis Bakteri

Pada awal perkembangannya, peneliti mulai mencoba probiotik dengan menggunakan strain bakteri yang biasa digunakan dalam fermentasi susu, selanjutnya dipilih dari strain bakteri yang secara alami berasal dan berdomisili dalam usus manusia. Hal ini berarti disamping bakteri asam laktat, dapat pula digunakan strain bakteri usus lain baik secara individu maupun kombinasi dari beberapa strain bakteri sebagai probiotik terutama untuk ruminansia. Hal ini disebabkan karena masalah utama pakan ruminansia adalah serat kasar, sedangkan babi dan ayam yang banyak digunakan sebagai probiotik adalah bakteri pencerna selulosa dan hemiselulosa (Soeharsono, 1997).

Bakteri asam laktat merupakan bakteri pilihan sebagai probiotik karena jarang bersifat patogen. Secara tradisional bakteri asam laktat yang sering digunakan adalah *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*.

Sifat-sifat penting yang digunakan untuk mengadakan seleksi strain bakteri yang mempunyai daya sebagai probiotik adalah memiliki target khusus, berasal dari strain bakteri yang telah diketahui sejarahnya, berpotensi untuk melakukan kolonisasi, memiliki stabilitas yang tinggi (terutama terhadap asam lambung, garam-garam empedu dan lisosim usus), sesuai dosis, berasal dari induk semang yang sama, mempunyai keaktifan biologis terhadap target dan mempunyai daya hidup insitu (Winarno, 1997). Sementara itu menurut Soeharsono (1997), suatu produk baru disebut sebagai probiotik bila mempunyai kriteria sebagai berikut : dapat diproduksi dalam skala industri, stabil dalam jangka lama bila disimpan dilapangan, bakteri tersebut harus dapat kembali hidup dalam usus dan harus dapat memberikan manfaat bagi induk semangnya.

II.2.3. Identifikasi Bakteri

Bakteri asam laktat adalah bakteri yang pada metabolisme karbohidrat dapat membentuk asam laktat baik sebagai satu-satunya produk maupun sebagai produk utama. Bakteri ini adalah bersifat gram positif, tidak berspora, katalase negatif, tidak membentuk sitokrom, anaerob tetapi aerotoleran, fastidius, toleran terhadap asam serta mempunyai kemampuan fermentasi yang sempurna (Rahayu, 1997).

Dalam penelitian ini, menggunakan bakteri asam laktat yang termasuk dalam genera *Lactobacillus* dan *Streptococcus*. Menurut Gilliland (1985), serta Frazier &

Westhoff (1988), *Lactobacillus acidophilus* mempunyai sifat-sifat sebagai berikut : suhu optimum pertumbuhan 37°C, produksi asam laktat 1,2-2%, homofermentatif, menghasilkan antibakterial (acidophilin, acidolin dan lactocidin). Sedangkan *Streptococcus faecium* mempunyai sifat-sifat : homofermentatif, tumbuh pada suhu 10-45°C, pH 9,6, empedu 40%, NaCl 6,5% dan sebagian besar strain menyebabkan alfa hemolisis, hidrolisis arginin dan asculin (Robert *et al.*, 1996).

Menurut Sharpe (1979), Frazier & Westhoff (1988) dan Volk (1992), berdasarkan produk yang dihasilkan, bakteri asam laktat digolongkan menjadi dua, yaitu:

1. Homofermentatif, yaitu bakteri yang dalam proses fermentasi menghasilkan asam laktat lebih dari 85% misalnya *Lactobacillus*, *Streptococcus* dan *Pedlococcus*.
2. Heterofermentatif, yaitu bakteri yang dalam proses fermentasinya selain menghasilkan asam laktat sebanyak 50% juga menghasilkan komponen-komponen lain yaitu etanol, asam asetat, manitol, ester, gliserol dan CO₂. Contoh kelompok bakteri asam laktat ini adalah *Lactobacillus* dan *Leuconostoc*.

II.2.4. Mekanisme Kerja

Probiotik adalah bakteri hidup non patogen yang mekanisme kerjanya mendesak bakteri *non indegenous* keluar dari ekosistem saluran pencernaan dan menggantikan lokasi bakteri patogen (translokasi) di dalam saluran pencernaan. Karena probiotik merupakan bakteri *indigenous*, maka proses translokasi tersebut adalah secara alamiah di dalam ekosistem usus. Dengan demikian mekanisme probiotik dalam usus adalah mempertahankan keseimbangan dan mengeliminasi bakteri patogen dari induk semang (Soeharsono, 1997). Menurut Winarno (1997), secara biokimia probiotik

mempunyai efek mereduksi sejumlah enzim di dalam feses yang mampu merubah bahan kokarsinogen menjadi karsinogen, menurunkan *lactose intolerance* dan menurunkan kolesterol serum darah.

Komponen-komponen yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang mempunyai pengaruh terhadap kesehatan menurut Hammes dan Tichazeck (1994) adalah sebagai berikut:

1. Memproduksi asam laktat dan sejumlah kecil asam asetat serta asam formiat yang menyebabkan penurunan pH, sehingga mampu menghambat proses pembusukan makanan, membunuh bakteri patogen dan proses detoksifikasi dengan mendegradasi komponen yang berbahaya dari flora normal.
2. Memproduksi komponen-komponen antibakterial yaitu bakteriosin, H_2O_2 dan asam lemak.
3. Mempunyai efek probiotik sebagai bakteri hidup dalam makanan.

Keuntungan probiotik menurut Ray (1996) adalah sebagai berikut:

1. Membantu Hidrolisis Laktosa

Pada kondisi *lactose intolerance* dimana seseorang tidak dapat memproduksi laktase dalam usus kecil maka bakteri ini akan menguntungkan karena dapat mensuplai laktase yang dibutuhkan dari hasil metabolisme di dalam usus kecil.

2. Membantu Mereduksi Kadar Kolesterol Serum darah

Dalam hal ini ada dua kemungkinan, pertama, beberapa *Lactobacillus* usus memecahkan kolesterol dalam makanan dan mereduksinya, yang kemudian diserap dalam darah. Sedangkan yang kedua, adalah beberapa *Lactobacillus* dapat menurunkan konjugasi garam-garam empedu dan mencegah reabsorbsinya di

dalam hati, sehingga hati dapat menggunakan kolesterol serum yang berlebih untuk sintesis garam-garam empedu. Hal ini secara tidak langsung membantu menurunkan kadar kolesterol dalam serum darah.

3. Mereduksi Kanker Kolon

Bakteri usus yang menguntungkan yaitu beberapa species *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* dalam usus, dapat mengontrol dan menekan pertumbuhan bakteri patogen dalam kolon yang memproduksi enzim-enzim yang secara aktif sebagai prokarsinogen dan karsinogen yang menyebabkan kanker kolon. Selain itu, bisa juga memperbaiki aktifitas peristaltik usus dan membantu keluarnya feses.

4. Memperbaiki Kerusakan Usus

Bila tubuh dalam kondisi tidak normal, misalnya karena adanya infeksi bakteri patogen dalam usus, maka populasi bakteri yang menguntungkan seperti bakteri *Lactobacillus* di dalam usus juga menurun. Pada kondisi sakit sebenarnya diperlukan bakteri yang menguntungkan dalam jumlah yang cukup besar. Hal ini untuk mengembalikan kondisi usus seperti semula, karena dengan pemberian antibiotik, selain dapat membunuh bakteri patogen yang tidak diharapkan juga membunuh bakteri menguntungkan di dalam usus.

Probiotik juga dapat berperan dalam menggertak terbentuknya imunoglobulin sehingga dapat meningkatkan imunitas tubuh untuk melawan infeksi bakteri, meningkatkan absorpsi kalsium usus dan meningkatkan fungsi sistem kelenjar serta memacu pertumbuhan tubuh.

II.2.5. Keamanan Probiotik

Sebelum digunakan sebagai probiotik, strain-strain bakteri yang digunakan sebagai probiotik harus diuji secara teliti dan hati-hati terhadap keamanan maupun efektifitasnya dengan beberapa cara, antara lain dengan metode *in vitro*, yaitu isolasi bakteri dalam suatu media dan pengujian terhadap spektrum antibakterialnya. Dalam hal ini, salah satu persyaratan yang paling penting adalah bakteri tersebut harus non invasif. Uji pada hewan percobaan harus dilakukan untuk mengetahui batas toksisitas akut dan tingkat keamanan dosis probiotik yang diberikan, disamping itu perlu juga dilakukan uji klinis (Winarno, 1997).

BAB III

MATERI DAN METODE

III.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dimulai tanggal 26 Pebruari 1998 sampai dengan 31 Maret 1998.

III.2. Materi Penelitian

III.2.1. Bahan-bahan yang digunakan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari : 24 ekor anak ayam jantan umur 10 hari tipe petelur strain CP 907 dari PT. Charoen Pokphand Jaya Farm dalam keadaan sehat. Isolat murni bakteri *Salmonella pullorum* dalam media SSA dari ayam penderita Pullorum yang diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. *Lactobacillus acidophillus* (strain NCL 84) dan *Streptococcus faecium* (strain NCS 97) sebagai probiotik dalam bentuk bubuk (Acid PAK 4 Way) produksi PT. Romindo Primavetcom. Vaksin ND, fumisid, media penyubur tetrathionate. Media isolasi yaitu SSA dan media untuk identifikasi yang terdiri dari TSIA, SIM, Sitrat Agar, Urea Agar serta Uji Gula-gula yang terdiri dari Glukosa, Laktosa, Manitol, Maltosa dan Sukrosa. Pakan ayam untuk starter khusus petelur 521. NaCl fisiologis, alkohol 70%, gula jawa dan air PDAM.

III.2.2 Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang litter terbuat dari kawat ram-raman, sekam, kertas koran, tempat minum dan tempat makan dari plastik, lampu dop 10 watt dua buah, rak dengan tabung reaksinya, cawan petri, jarum suntik, ose, spatel, inkubator, autoclave, pembakar bunsen, sonde, kapas, skalpel, pinset, masker dan sarung tangan karet. Semua alat-alat sebelum digunakan dalam keadaan bersih dan steril.

III.3. Metode Penelitian

III.3.1. Persiapan

Anak ayam umur satu hari (DOC) dipelihara dalam kandang litter yang beralaskan sekam dan diatasnya dilapisi dengan kertas koran. Sebelum dipergunakan, kandang dan peralatan kandang dibersihkan dan difumigasi terlebih dahulu, DOC yang baru datang diberi minum air gula jawa untuk menghilangkan stres dan untuk memulihkan tenaga.

Pakan dan minum untuk anak ayam diberikan secara *ad libitum*, ditempatkan disekitar pemanas. Pada hari ke empat, dilakukan vaksinasi ND dengan cara tetes mata. Selanjutnya pada hari ke-10 anak ayam dipuasakan terlebih dahulu selama delapan jam dan hanya diberi air minum, kemudian dilakukan infeksi buatan dengan bakteri *Salmonella pullorum*.

III.3.2. Isolasi dan Identifikasi *Salmonella pullorum*

Isolat murni bakteri *Salmonella pullorum* diperbanyak terlebih dahulu pada media SSA dengan cara, mengambil satu koloni bakteri menggunakan ose dan digoreskan secara zig-zag di atas media biakan, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C.

Untuk mengidentifikasi bahwa koloni yang tumbuh pada media SSA tersebut adalah bakteri *Salmonella pullorum* maka dilakukan pengujian lebih lanjut secara biokimiawi pada media TSIA, SIM, Urea Agar, Sitrat Agar dan uji gula-gula. Adapun teknik pengujian memakai media di atas, dilakukan sebagai berikut:

Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Pemupukan pada media ini dilakukan dengan cara mengambil bakteri dari biakan murni menggunakan ose steril, kemudian ditusukan pada bagian media yang miring, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada 37°C.

Pemupukan pada media ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa disamping untuk mengetahui apakah bakteri tersebut membentuk H₂S dan gas atau tidak. Bila glukosa, sukrosa dan laktosa mengalami fermentasi, akan ditandai dengan terjadinya perubahan warna pada media oranye kemerahan menjadi kuning (asam) dan terbentuk celah di bagian bawah agar yang tegak karena dihasilkan gas. Apabila tidak terjadi fermentasi, maka media akan berwarna merah (alkalis). Pembentukan H₂S akan menghasilkan warna hitam pada bagian yang tengah media.

Sulfit Indol Motility (SIM)

Cara pemupukan pada media ini adalah dengan mengambil koloni dari biakan murni kemudian ditusukkan sampai setengah bagian dari media. Selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C.

Pengamatan dilakukan dengan menambah 0,5 ml kloroform dan 0,5 ml reagen kovach. Hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya cincin indol yang berwarna ungu kemerahan. Adanya H₂S ditunjukkan dengan warna hitam pada media, sedangkan motilitas terlihat dengan adanya kekeruhan dan penyebaran pertumbuhan yang menjalar ke atas. Tidak adanya motilitas ditandai dengan adanya garis putih.

Urea Agar

Biakan murni bakteri diambil menggunakan ose steril dan digoreskan pada permukaan media, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Tujuan uji ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri mampu menghasilkan enzim urease yang dapat menghidrolisis urea menjadi amoniak. Bakteri yang dapat menghidrolisis urea akan ditandai dengan perubahan warna media dari warna merah muda menjadi lebih gelap.

Sitrat Agar

Satu koloni bakteri dari biakan murni diambil dengan menggunakan ose steril dan digoreskan pada permukaan media kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon utama. Adanya pertumbuhan bakteri ini, ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi biru sedangkan hasil yang negatif media tetap berwarna hijau.

Media Gula-gula (Glukosa, Sukrosa, Maltosa, Manitol dan Laktosa)

Pemupukan pada media ini dilakukan dengan cara mencelupkan ose yang berisi bakteri ke dalam tabung media gula-gula, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Tujuan pemupukan pada media ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri tersebut mengakibatkan terjadinya fermentasi gula-gula di atas atau tidak.

Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari merah menjadi kuning karena gula difermentasi dan menghasilkan asam. Hasil negatif apabila tidak terjadi perubahan warna media atau media tetap berwarna merah.

III.3.3. Pembuatan Suspensi Bakteri *Salmonella pullorum*

Hasil pupukan *Salmonella pullorum* yang diperbanyak pada media SSA dan sudah dibuktikan secara biokimiawi, ditambahkan 3 ml NaCl fisiologis ke dalam cawan petri dan digoyang-goyangkan sehingga terbentuk suatu suspensi, kemudian ditampung dalam tabung reaksi dan siap dipakai sebagai bahan penularan pada anak ayam dengan pengenceran terlebih dahulu..

III.3.4. Pengenceran dan Jumlah Bakteri

Disiapkan dua buah tabung reaksi yang disterilkan, masing-masing tabung diisi NaCl fisiologis sebanyak 9 ml. Pada tabung pertama, ditambahkan 1 ml suspensi bakteri menggunakan pipet steril kemudian dikocok-kocok dengan pelan. Dari tabung pertama tersebut, diambil 1 ml dengan menggunakan pipet steril yang lainnya dan dimasukkan ke dalam tabung ke dua. Sehingga didapatkan tingkat pengenceran 10^{-1}

pada tabung reaksi pertama dan 10^{-2} pada tabung reaksi ke dua (lihat Lampiran 5). Jumlah bakteri *Salmonella pullorum* yang diinfeksi pada anak ayam umur 10 hari tersebut adalah pada tingkat pengenceran bakteri 10^{-2} dengan dosis 10 ID_{50} yaitu sebanyak 1 ml yang mengandung $2,89 \cdot 10^{5,5}$ sel/mililiter (Ayling, 1998).

III.3.5. Sampel Anak Ayam

Anak ayam yang sudah berumur 10 hari sebanyak 24 ekor, dibagi secara acak menjadi empat kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari enam ekor. Semua anak ayam tersebut diinfeksi bakteri *Salmonella pullorum* dengan dosis 10 ID_{50} sebanyak 1 ml. Keempat perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut : perlakuan pertama (P1) adalah anak ayam yang diberi probiotik 1 gram/liter air minum dimulai pada hari ke nol setelah infeksi selama tujuh hari berturut-turut, perlakuan ke dua (P2) adalah anak ayam yang diberi probiotik 1 gram/liter air minum dimulai pada hari ke empat setelah infeksi selama tujuh hari berturut-turut, perlakuan ke tiga (P3) adalah anak ayam yang diberi probiotik 1 gram/liter air minum dimulai pada hari ke delapan setelah infeksi selama tujuh hari berturut-turut, perlakuan ke empat (P0) adalah anak ayam tanpa pemberian probiotik sebagai kelompok kontrol.

III.3.6. Cara Menginfeksi Anak Ayam

Sebanyak 24 ekor anak ayam yang sudah diambil secara acak diinfeksi *Salmonella pullorum* dosis 10 ID_{50} secara oral yaitu dengan cara mengambil satu mililiter suspensi bakteri dengan menggunakan jarum suntik yang ujungnya dihubungkan dengan sonde. Anak ayam dipegang oleh tangan kiri dengan posisi agak

ditengadahkan, sedangkan tangan yang satunya lagi memegang alat suntik berisi bakteri yang telah dihubungkan dengan sonde. Kemudian sonde dimasukkan kedalam paruh anak ayam hingga mencapai tembolok, selanjutnya suspensi bakteri tersebut disemprotkan masuk ke dalam tembolok.

III.3.7. Teknik Bedah Bangkai

Teknik bedah bangkai yang dilakukan pada anak ayam adalah sebagai berikut: anak ayam yang telah mati atau dibunuh, disiram terlebih dahulu dengan air agar bulu tidak mengganggu pemeriksazn, lalu bangkai ayam diletakkan di atas meja dengan posisi punggung di atas meja dan ekor mengarah ke pemeriksa. Kemudian bulu dicabuti pada bagian yang akan diiris. Kulit antara kaki dan tubuh diiris kemudian kaki dikuakkan ke samping sehingga bangkai dapat terlentang, kemudian kulit tubuh dilepas mulai dari pertengahan perut dilanjutkan ke depan dan ke belakang sehingga kulit yang menutupi perut dan dada dapat terlepas. Dinding perut bagian belakang digunting secara melingkar, dilanjutkan dengan memotong costae dan clavicula. Pembukaan ini diteruskan ke belakang sehingga organ-organ dalam rongga dada dan rongga perut dapat terlihat dengan jelas. Caecum diambil dengan jalan memotong bagian distal ileum dan bagian proksimal kolon untuk dilakukan uji bakteriologi.

III.3.8. Uji Bakteriologi *Salmonella pullorum* dari Caecum Anak Ayam

Caecum anak ayam yang telah diambil dimasukkan dalam kantong-kantong plastik kemudian dimasukkan dalam termos yang berisi es dan dibawa ke laboratorium untuk pengujian secara bakteriologi.

Isolasi *Salmonella pullorum* dilakukan dengan cara memupuk spesimen caecum beserta isinya dalam media SSA yang merupakan media selektif untuk menumbuhkan dan memperbanyak *Salmonella pullorum*. Caecum dihancurkan dengan menggunakan gunting dan ose yang telah dipanaskan di atas bunsen. Kemudian dengan menggunakan ose steril spesimen tersebut dimasukkan dalam media Tetrathionat sebagai media penyubur dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu dengan menggunakan ose steril, mulai dilakukan pemupukan pada media SSA dan diinkubasikan kembali selama 24 jam pada suhu 37°C.

Untuk mengidentifikasi koloni bakteri yang tumbuh pada media SSA tersebut, dilakukan serangkaian uji biokimia seperti yang pernah dilakukan pada waktu melakukan identifikasi *Salmonella pullorum* dari biakan murni.

III.4. Perlakuan Penelitian

Dalam penelitian ini semua faktor yang diduga dapat mempengaruhi hasil penelitian akan dibuat homogen meliputi kandang, pakan, umur, jenis kelamin, suhu lingkungan dan lain-lain.

Anak ayam yang telah berumur 10 hari, kemudian diambil secara acak dari ke-24 ekor anak ayam tersebut ke dalam empat kelompok perlakuan, dimana masing-masing kelompok perlakuan berisi enam ekor.

Dilakukan pengamatan pada masing-masing anak ayam dari semua perlakuan, setiap hari selama 16 hari setelah infeksi terhadap kejadian diare dan juga kesembuhannya.

Setelah itu dilakukan pembedahan pada semua anak ayam dari masing-masing perlakuan, dan mengambil caecum dengan jalan memotongnya dari usus yang lain. Dilakukan isolasi dan identifikasi kembali terhadap bakteri *Salmonella pullorum* dari caecum anak ayam yang telah diinfeksi dan telah mendapat perlakuan yang berbeda-beda.

III.5. Parameter yang diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Diare anak ayam yang mendapat infeksi *Salmonella pullorum* secara oral pada masing-masing perlakuan yang berbeda serta kesembuhannya.
2. Mengetahui ada tidaknya bakteri *Salmonella pullorum* berdasarkan hasil uji bakteriologi dari caecum beserta isinya.

III.6. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Pada penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan, masing-masing perlakuan terdapat enam ulangan sehingga banyaknya satuan percobaan dalam penelitian ini adalah 24 satuan percobaan (Kusriningrum, 1989).

Lama kesembuhan diare anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum* secara oral pada masing-masing kelompok perlakuan dinyatakan dalam nilai interval waktu 0 sampai 5, adalah sebagai berikut:

- Nilai interval 0 : Anak ayam yang tidak mengalami diare sama sekali atau tetap sehat hingga akhir pengamatan.

- Nilai interval 1 : Anak ayam yang mengalami diare dan sembuh pada dua hari pertama pemberian probiotik.
- Nilai interval 2 : Anak ayam yang mengalami diare dan sembuh pada dua hari kedua pemberian probiotik.
- Nilai interval 3 : Anak ayam yang mengalami diare dan sembuh pada dua hari ketiga pemberian probiotik.
- Nilai interval 4 : Anak ayam yang mengalami diare dan sembuh pada dua hari keempat pemberian probiotik.
- Nilai interval 5 : Anak ayam yang tetap mengalami diare (sakit) hingga akhir pengamatan.

Data yang diperoleh ditabulasikan kemudian dianalisis secara statistik dengan analisis varian menggunakan metode Kruskal-Wallis , kemudian dilanjutkan dengan Uji Berganda Z dengan taraf signifikan 5% untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda nyata (Sarmanu, 1994). Sedangkan hasil isolasi dan identifikasi bakteriologi caecum anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum* pada masing-masing perlakuan, dinyatakan dalam tanda positif atau negatif di dalam tabel dan tidak dianalisis secara statistik.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

IV.1. Interval Lama Kesembuhan Diare Anak Ayam

Dari penelitian ini didapatkan bahwa anak ayam yang mendapat infeksi *Salmonella pullorum* secara oral pada umur 10 hari dengan dosis 10 ID₅₀ yang mengandung $2,89 \cdot 10^{5,5}$ sel/mililiter, mulai menunjukkan gejala klinis sekitar empat hari setelah infeksi. Gejala klinis yang pertama muncul adalah berupa diare dengan feses berwarna coklat kehijauan dan anak ayam tampak mengalami depresi. Pada kelompok kontrol, gejala klinis tersebut berlangsung selama kurang lebih satu minggu dan selanjutnya anak ayam mulai menunjukkan diare coklat dan sedikit bercampur dengan feses berwarna putih. Beberapa ekor anak ayam dalam kelompok kontrol ini, mulai menunjukkan adanya kelemahan dan peradangan pada satu atau kedua persendian kaki.

Hasil pengamatan terhadap kejadian diare anak ayam yang mendapat infeksi *Salmonella pullorum* pada masing-masing perlakuan berdasarkan uji statistik (lihat Lampiran 2 dan 3), dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Rata-rata Rank Interval Lama Kesembuhan Diare (hari) Anak Ayam yang Diinfeksi *Salmonella pullorum* pada Masing-masing Kelompok Perlakuan

Perlakuan	$\bar{x} \pm SD$
P1	6,17 ± 2,858 a
P2	10,42 ± 4,543 ab
P3	14,25 ± 5,607 ab
Kontrol	19,17 ± 6,940 b

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama, menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$).

- P1 : pemberian probiotik mulai hari ke nol setelah infeksi
 P2 : pemberian probiotik mulai hari ke empat setelah infeksi
 P3 : pemberian probiotik mulai hari ke delapan setelah infeksi
 Kontrol : infeksi tanpa probiotik

Pada Tabel 1 diatas, hasil analisis dengan mempergunakan Uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan ($p < 0,01$). Setelah dilakukan Uji Pasangan Berganda Z dengan taraf signifikan 5% (lihat Lampiran 3), diketahui bahwa P1 berbeda nyata dengan kelompok kontrol tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan yang lain.

IV.2. Hasil Uji Bakteriologi

Berdasarkan hasil uji bakteriologi yang dilakukan dengan spesimen caecum beserta isinya dari semua anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum*, didapatkan dua macam koloni bakteri yang berbeda yaitu koloni bakteri yang berwarna merah dan jernih tidak berwarna. Berdasarkan hasil uji biokimia yang dilakukan, maka dapat diketahui pada Tabel 2 berikut :

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia terhadap Koloni Bakteri yang Berhasil Diisolasi dalam Media SSA pada Semua Kelompok Perlakuan

Uji Biokimia	Koloni Bakteri	
	Jernih transparan	Merah
TSIA : H ₂ S	+	-
Gas	+	+
Fermentasi	basa/asam	asam/asam
Urea	-	-
Sitrat	+	-
SIM : Indol	-	+
H ₂ S	+	-
Motil	-	+
Gula ² : Glukosa	+	+
Laktosa	-	+
Manitol	+	+
Maltosa	+	+
Sukrosa	-	+

- Keterangan: H₂S (+) : terdapat cincin hitam pada bagian tengah media
 Gas (+) : terangkatnya media ke atas
 Indol (+) : terbentuk cincin merah pada permukaan media
 Motil (+) : terdapatnya garis putih dan menyebar seperti cemara terbalik
 Gula-gula(+) : terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning
 Urea (+) : terjadi perubahan warna media dari merah muda menjadi lebih merah.
 Sitrat (+) : terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi biru

Pada Tabel 2 diatas, diketahui bahwa koloni yang jernih dan transparan adalah bakteri *Salmonella pullorum*, sedangkan koloni yang berwarna merah adalah *Escherichia coli*. Dengan demikian, ada tidaknya pertumbuhan *Salmonella pullorum* dari masing-masing perlakuan dapat diketahui pada Tabel 3 di bawah ini:

Tabel 3. Hasil Isolasi *Salmonella pullorum* dari Caecum Anak Ayam dalam Media SSA pada Masing-masing Perlakuan.

Ulangan	Perlakuan			
	P1	P2	P3	Kontrol
1	-	-	+	+
2	-	-	+	+
3	-	+	+	+
4	-	-	+	+
5	-	+	+	+
6	-	-	+	+

- Keterangan: tanda + : masih terdapat pertumbuhan *Salmonella pullorum*.
 tanda - : tidak ditemukan pertumbuhan *Salmonella pullorum*.
 P1 : pemberian probiotik mulai hari ke nol setelah infeksi
 P2 : pemberian probiotik mulai hari ke empat setelah infeksi
 P3 : pemberian probiotik mulai hari ke delapan setelah infeksi
 Kontrol : infeksi tanpa probiotik

BAB V

PEMBAHASAN

Pullorum sebagai penyakit bakterial yang sangat merugikan terutama pada ayam, sangat sulit disembuhkan bila ayam tersebut sudah positif dinyatakan terinfeksi Pullorum. Oleh karena itu tindak pencegahan dan pengendalian penyakit harus benar-benar diutamakan.

Salmonella pullorum melakukan kolonisasi pada saluran pencernaan ayam dan biasanya terlokalisir di dalam caecum. Aktivitas kolonisasi bakteri *Salmonella pullorum* ini dihambat dengan tingginya konsentrasi asam-asam organik dan juga pH yang rendah (Bilgili dan Moran, 1990; Anonimus,1992).

Probiotik merupakan bakteri hidup non patogen yang mekanisme kerjanya mendesak bakteri patogen keluar dari ekosistem saluran pencernaan dan menggantikan lokasi bakteri patogen tersebut secara translokasi alami di dalam saluran pencernaan, hal ini dapat terjadi karena probiotik merupakan bakteri *indegenous* (Soeharsono, 1997).

Probiotik mampu menghasilkan sejumlah besar asam laktat yang menyebabkan keasaman di dalam saluran pencernaan hingga mencapai pH 4 atau kurang, serta memproduksi komponen-komponen antibakterial, diantaranya adalah bakteriosin, H₂O₂ dan asam-asam organik yang mampu menekan kemampuan bakteri *Salmonella pullorum* dalam melakukan kolonisasi di dalam usus. Dalam keadaan demikian, bakteri *Salmonella pullorum* akan mudah dikeluarkan dari ekosistem saluran

pencernaan oleh gerakan peristaltis usus (Anonimus, 1992; Hammes dan Tichazeck, 1994; Ray, 1996).

Pada perlakuan pertama, nilai rank interval lama kesembuhan diare anak ayam adalah $6,17 \pm 2,858$ hari. Angka ini sangat berbeda nyata dengan kelompok kontrol yaitu $19,17 \pm 6,940$ hari ($p < 0,01$), tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lain ($p > 0,05$). Probiotik dalam perlakuan pertama ini mulai diberikan pada hari ke nol selama tujuh hari berturut-turut setelah anak ayam mendapat infeksi *Salmonella pullorum* secara oral. Disini hanya satu ekor anak ayam yang mengalami diare dan segera dapat disembuhkan dengan pemberian probiotik. Sedangkan lima ekor anak ayam yang lainnya tidak mengalami diare sama sekali dan tetap sehat hingga pengamatan berakhir. Hal ini disebabkan karena probiotik diberikan pada waktu yang hampir bersamaan dengan infeksi, sehingga terjadi persaingan dan saling berkompetisi untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya antara bakteri *Salmonella pullorum* dengan probiotik. Bakteri *Salmonella pullorum* yang belum sempat mengadakan kolonisasi akan mudah dikeluarkan dari ekosistem saluran pencernaan dengan bantuan peristaltis usus. Dengan demikian, keseimbangan flora normal usus dapat tetap dipertahankan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ray (1996) dan Soeharsono (1997) bahwa probiotik mampu mengeliminasi infeksi bakteri patogen di dalam saluran pencernaan, memperbaiki peristaltik usus serta mampu meningkatkan ketahanan tubuh terhadap adanya infeksi.

Hasil uji bakteriologi yang telah dilakukan dalam perlakuan pertama ini, diketahui bahwa tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri *Salmonella pullorum* dari caecum keenam ekor anak ayam tersebut.

Pada perlakuan kedua, anak ayam yang mengalami diare, diketahui dapat disembuhkan dengan pemberian probiotik mulai hari ke empat selama tujuh hari berturut-turut setelah infeksi *Salmonella pullorum* secara oral. Rata-rata rank interval lama kesembuhan diare anak ayam pada perlakuan ke dua ini adalah $10,42 \pm 4,543$ hari. Berdasarkan Uji Pasangan Berganda Z dengan taraf signifikan 5%, menunjukkan bahwa P2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan lain ($p > 0,05$).

Kolonisasi *Salmonella pullorum* pada bagian distal usus halus dan caecum merupakan patogenesis kuman tahap pertama (Anonimus, 1992). Bakteri *Salmonella pullorum* yang berada pada membran mukosa usus ditekan dan dihambat pertumbuhannya oleh probiotik. Penurunan pH di dalam saluran pencernaan, akan menyebabkan stress sublethal bakteri *Salmonella pullorum* sehingga bahan-bahan antibakterial yang dihasilkan oleh probiotik akan masuk ke dalam sel dan melisiskan sel bakteri patogen tersebut (Anonimus, 1992; Ray, 1996).

Probiotik yang merupakan bakteri *indigenous* akan mendesak bakteri patogen keluar dari ekosistem saluran pencernaan dengan bantuan peristaltis usus, dan menggantikan lokasi bakteri patogen tersebut secara translokasi alami. Hal ini menyebabkan keseimbangan flora normal di dalam saluran pencernaan dapat dipulihkan kembali (Anonimus, 1995; Soeharsono, 1997).

Berdasarkan hasil uji bakteriologi, diketahui bahwa meskipun diare anak ayam dapat disembuhkan, tetapi pada ulangan ketiga dan kelima dalam perlakuan kedua ini, masih ditemukan pertumbuhan bakteri *Salmonella pullorum* dalam media selektif SSA (lihat Tabel 3). Hal ini dapat terjadi tergantung dari perbedaan kepekaan masing-masing individu terhadap probiotik, disamping faktor-faktor lain yang mempengaruhi

yaitu tingkat pemberian probiotik, spesies ternak, umur dan fisiologi, tingkat produktivitas serta stres (Anonimus, 1995).

Pada perlakuan ketiga, diketahui bahwa diare anak ayam yang mendapat infeksi *Salmonella pullorum* secara oral, masih dapat disembuhkan dengan pemberian probiotik mulai hari ke delapan selama tujuh hari berturut-turut setelah infeksi. Rata-rata rank interval lama kesembuhan diare pada perlakuan ini adalah $14,25 \pm 5,067$ hari dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lain ($p > 0,05$).

Berdasarkan hasil uji bakteriologi dari caecum anak ayam pada perlakuan ketiga ini menunjukkan bahwa, masih ditemukan pertumbuhan bakteri *Salmonella pullorum* pada keenam ekor anak ayam ulangnya. Hal ini bisa saja terjadi, meskipun dengan pemberian probiotik tersebut dapat menyembuhkan diare anak ayam, tetapi belum bisa menghilangkan infeksi secara total.

Mengingat masa inkubasi penyakit Pullorum pada anak ayam adalah sekitar satu minggu (Ressang, 1984), sehingga bakteri *Salmonella pullorum* yang sudah melakukan invasi ke dalam sel epitel usus, kemudian berkembang biak dan menginfeksi sel-sel terdekat disekitarnya akan sulit dihilangkan dengan pemberian probiotik tersebut. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ray (1996) dan Soeharsono (1997), bahwa mekanisme kerja probiotik dalam mengadakan translokasi alami dan mengeliminasi bakteri patogen keluar dari ekosistem saluran pencernaan hanya terjadi pada membran mukosa usus.

Pada perlakuan kontrol, diare anak ayam hingga akhir pengamatan masih terus berlangsung bahkan kondisi anak ayam tampak melemah. Invasi bakteri *Salmonella pullorum* pada epitel usus akan terus berlangsung, meluas dan menyebar masuk

melalui limfonoduli regional dan juga peredaran darah. Dengan demikian, proses infeksi akan menyerang organ sistemik lainnya. Hal ini terbukti bahwa pada beberapa anak ayam dari perlakuan kontrol mulai tampak peradangan pada satu atau kedua persendian kaki, anak ayam tampak tidak bergairah dan terjadi perubahan warna feses dari coklat kehijauan menjadi bercampur dengan massa putih seperti pasta yang menandakan mulai adanya kerusakan jaringan ginjal. Menurut Guyton (1976), apabila sel-sel ginjal mulai rusak, akan menyebabkan kegagalan fungsi ginjal baik secara kronis maupun akut. Kemampuan ginjal untuk memfilter bahan metabolisme akan berkurang, sehingga terjadi peningkatan ureum dan Non Protein Nitrogen (misalnya asam urat) yang pada umumnya merupakan produk akhir metabolisme protein yang harus dikeluarkan. Oleh karena itu, konsentrasi asam urat dalam feses anak ayam yang diinfeksi bakteri *Salmonella pullorum* meningkat, sehingga menyebabkan feses berwarna putih.

Hasil uji bakteriologi pada perlakuan kontrol ini menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Salmonella pullorum* pada semua ulangan walaupun satu dari enam ulangan tersebut tidak mengalami diare. Hal ini dapat terjadi karena adanya faktor yang mempengaruhi kepekaan masing-masing individu terhadap adanya infeksi bakteri *Salmonella pullorum*, yaitu status fisiologis dan ketahanan tubuh yang berbeda diantara anak ayam tersebut.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian probiotik selama tujuh hari berturut-turut mulai hari ke nol setelah infeksi, dapat mencegah terjadinya diare anak ayam.
2. Pemberian probiotik selama tujuh hari berturut-turut mulai hari ke empat dan ke delapan setelah infeksi, dapat menyembuhkan diare anak ayam yang mendapat infeksi bakteri *Salmonella pullorum* secara oral.
3. Ditinjau dari hasil pemeriksaan bakteriologi, pemberian probiotik mulai hari ke nol setelah infeksi, dapat menghilangkan bakteri infeksi yang ditandai dengan tidak adanya bakteri *Salmonella pullorum* dalam caecum anak ayam.
4. Pemberian probiotik mulai hari ke empat dan ke delapan setelah infeksi, masih ditemukan pertumbuhan bakteri *Salmonella pullorum* dalam caecum anak ayam.
5. Pemberian probiotik mulai hari ke empat dan ke delapan setelah infeksi dapat menyembuhkan diare anak ayam tetapi anak ayam dapat bertindak sebagai karier bakteri *Salmonella pullorum*.

VI.2. Saran

Dari penelitian ini dapat disarankan beberapa hal sebagai berikut :

1. Probiotik dapat diberikan pada anak ayam umur satu hari (DOC) selama beberapa hari secara berturut-turut untuk meningkatkan ketahanan tubuhnya terhadap infeksi bakteri *Salmonella pullorum*.
2. Apabila didalam suatu peternakan diketahui ada ayam yang mengalami diare walaupun belum diketahui penyebabnya, dianjurkan segera diberikan probiotik selama beberapa hari secara berturut-turut untuk menyembuhkan diare ayam tersebut.

BAB VII

RINGKASAN

Probiotik mempunyai kemampuan untuk menekan, menghambat pertumbuhan serta membunuh bakteri patogen saluran pencernaan dengan komponen-komponen yang dihasilkan. Probiotik juga mampu mengadakan translokasi alami serta mendesak dan mengeluarkan bakteri patogen dari saluran pencernaan dengan bantuan peristaltik usus, sehingga keseimbangan flora normal di dalam saluran pencernaan dapat dipertahankan.

Dalam penelitian ini digunakan 24 ekor anak ayam umur sepuluh hari yang diinfeksi bakteri *Salmonella pullorum* secara oral dengan dosis 10 ID₅₀ yang terbagi atas empat kelompok perlakuan, masing-masing perlakuan terdiri atas enam ekor anak ayam. Perlakuan P1 adalah anak ayam yang diberi probiotik mulai hari ke nol setelah infeksi, P2 adalah pemberian probiotik mulai hari ke empat setelah infeksi, P3 adalah pemberian probiotik mulai hari ke delapan setelah infeksi serta perlakuan P0 adalah sebagai kontrol untuk anak ayam yang tidak diberi probiotik.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa anak ayam mulai tampak diare coklat kehijauan rata-rata pada hari ke empat setelah infeksi dan terus berlangsung sekitar satu minggu. Pada perlakuan kontrol kondisi anak ayam makin tidak baik yaitu, anak ayam tampak mengalami depresi, beberapa anak ayam mulai terjadi berak kapur sekitar tiga minggu setelah infeksi. Peradangan pada satu atau kedua persendian kaki juga mulai tampak pada beberapa anak ayam dalam perlakuan tersebut.

Diare anak ayam diketahui dapat disembuhkan hingga hari kedelapan setelah infeksi, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa rata-rata rank interval lama kesembuhan diare pada P1 adalah $6,17 \pm 2,858$ hari yang sangat berbeda nyata dengan kelompok kontrol yaitu $19,17 \pm 6,940$ hari ($p < 0,01$), tetapi tidak berbeda nyata dengan P2 maupun P3 ($p > 0,05$).

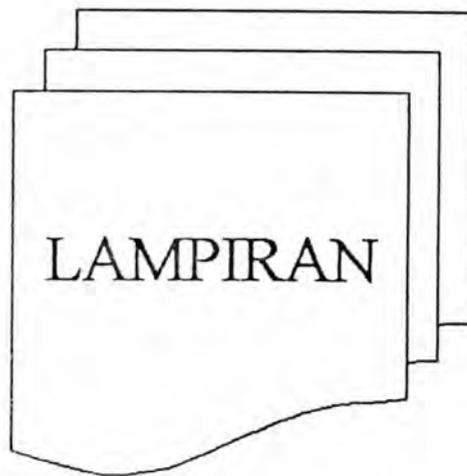
Hasil uji bakteriologi yang dilakukan menunjukkan bahwa pada perlakuan P1 tidak ditemukan adanya pertumbuhan *Salmonella pullorum*. Pada P2, ulangan ke tiga dan ke lima masih terdapat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada P3 dan kontrol ditemukan pertumbuhan *Salmonella pullorum* dalam media SSA pada semua ulangannya.

Berkaitan dengan hal tersebut diatas, maka dapat disimpulkan bahwa probiotik dapat digunakan untuk mencegah diare anak ayam walaupun diberikan pada anak ayam yang telah mendapatkan infeksi tetapi belum menunjukkan gejala. Disamping itu probiotik juga dapat digunakan untuk menyembuhkan diare anak ayam walaupun secara spesifik belum diketahui penyebabnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Akoso, B.T. 1993. Manual Kesehatan Unggas. Cetakan Pertama. Kanisius. Yogyakarta. 50-52.
- Anonimus, 1981. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Jilid 1. Cetakan ke dua. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian. Jakarta. 73-80.
- Anonimus, 1992. Diktat Ilmu Penyakit Bakterial. Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. 19-25.
- Anonimus, 1995. Probiotik Pemanfaatannya dalam Pakan Ternak. Ruminansia No. 4. Th. IX: 3-4.
- Biester, M.S. and L.H. Schwartz, 1965. Disease of Poultry. 5th Ed. The Iowa state University Press. U.S.A. 220-224.
- Bilgili, S.F. and E.T. Moran, 1990. Influence of Whey and Probiotic Supplemented Withdrawal Feed on the Retention of Salmonella Intubated into Market Age Broilers. Poultry Sci. 69: 1670-1674.
- Frazier, W.C. and D.C. Westhoff, 1988. Food Microbiology. 4th Ed. New York Inc. 44-56.
- Gilliland, S.E. 1985. Bacterial Starter Culture for Food. C.R.C. Press. Boca Raton Inc. Florida.
- Gordon, R.F. and F.T.W. Jordan, 1982. Poultry Disease. 2nd Ed. Builliese Randall. East Bourne. East Sussex. 9-15.
- Guyton, A.C. 1976. Fisiologi Kedokteran. Edisi 5. Bag.1. Diterjemahkan oleh Aji Dharma. C.V. EGC. Jakarta. 681-682.
- Hammes, W.P. and P.S. Tichaczek. 1994. The Potential of Lactic Acid Bacteria for the Production of Safe and Wholesome Food. Z. Lebensm-Unters-Forsch. 198 (3) (Abrstr.): 193-201.
- Hofstad, M.S. 1984. Disease of Poultry. 8th Ed. Angus and Robertson. Sidney. Melbourne. 231-250.
- Jang, S.S; E.L. Biberstein and D.C. Hirgh. 1976. A Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Micology. The University of California Davis. U.S.A. 30-32; 113-118.

- Kusriningrum, 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga. Surabaya. 53-64.
- Rahayu, E.S. 1997. Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil Agensia Antimikroba. Seminar. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 1-8.
- Ray, B. 1996. Fundamental Food Microbiology. CRC Press. Boca Raton Inc. New York. 194-197.
- Ressang, A.A. 1984. Patologi Khusus Veteriner. N.V. Denpasar. 591-593.
- Roberts, T.A., A.C. Baird-Parker and R.B. Tompkin, 1996. Microorganism in Food. 1st Ed. Blackie Academic and Professional. Chapman and Hall. London. 335-336; 340.
- Rumawas, W. 1976. Patologi Penyakit Unggas. Kursus Pengamatan Penyakit Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta. 11-18; 169-170.
- Sainsbury, D. 1992. Poultry Health and Management. 3rd Ed. Blackwell Scientific Publisher. Australia. 117-119.
- Sarmanu, 1994. Diktat Uji Komparasi pada Statistika Non Parameterik. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. 9-12.
- Sharpe, M. 1979. Identifications Methods for Microbiology. 2nd Ed. F.A. Skinner and D.W. Love Lock. A.P. London.
- Soeharsono, 1997. Probiotik Alternatif Pengganti Antibiotik. Buletin PPSKI No. 9. Th. X. 3-5.
- Volk, W.A. 1992. Basic Microbiology. 7th Ed. Harper Collins Publisher Inc. School of Medicine. University of Virginia. 86-88; 410-419.
- Winarno, F.G. 1997. Probiotik dan Keamanan Pangan. Seminar. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 1-15.



Lampiran 1. Interval Lama Kesembuhan Diare Anak Ayam yang Diinfeksi *Salmonella pullorum* pada Empat Kelompok Perlakuan.

Ulangan	Perlakuan			
	P1	P2	P3	Kontrol
1	0	0	3	5
2	0	2	3	5
3	0	2	2	5
4	0	0	0	0
5	2	3	3	5
6	0	2	4	5

Keterangan:

Nilai interval 0 : Anak ayam tidak mengalami diare hingga akhir pengamatan

1 : Anak ayam diare dan sembuh hari ke-1 dan 2 pemberian probiotik

2 : Anak ayam diare dan sembuh hari ke-3 dan 4 pemberian probiotik

3 : Anak ayam diare dan sembuh hari ke-5 dan 6 pemberian probiotik

4 : Anak ayam diare dan sembuh hari ke-7 dan 8 pemberian probiotik

5 : Anak ayam tetap mengalami diare hingga akhir pengamatan

Lampiran 2. Analisis Statistik Interval Lama Kesembuhan Diare Anak Ayam yang Diinfeksi *Salmonella pullorum*.

Ulangan	P1		P2		P3		Kontrol	
	NI	R	NI	R	NI	R	NI	R
1	0	5	0	5	3	16,5	5	22
2	0	5	2	12	3	16,5	5	22
3	0	5	2	12	2	12	5	22
4	0	5	0	5	0	5	0	5
5	2	12	3	16,5	3	16,5	5	22
6	0	5	2	12	4	19	5	22
R	37		62,5		85,5		115	
\bar{R}	6,17		10,42		14,25		19,17	
$(\sum R)^2$	1369		3906,25		7310,25		13225	

Keterangan : NI : Nilai Interval
 R : Rank
 $\sum R$: Jumlah rank
 \bar{R} : Rata-rata rank

Perhitungan :

- Penilaian peringkat (rank) diperoleh dengan menjumlah secara urut nilai interval terkecil lalu dibagi dengan banyaknya nilai interval tersebut, maka diperoleh:

Pada nilai interval 0, lama kesembuhan diare anak ayam mempunyai rank:

$$\frac{1 + 2 + 3 + \dots + 9}{9} = 5$$

Pada nilai interval 1:

$$\frac{0}{0} = 0$$

Pada nilai interval 2:

$$\frac{10 + 11 + 12 + 13 + 14}{5} = 12$$

Pada nilai interval 3:

$$\frac{15 + 16 + 17 + 18}{4} = 16,5$$

Pada nilai interval 4:

$$\frac{19}{1} = 19$$

Pada nilai interval 5:

$$\frac{20 + 21 + 22 + 23 + 24}{5} = 5$$

Rumus:

$$H_{hitung} = \frac{12}{N(N+1)} \cdot \sum_{j=1}^k \frac{R_j^2}{n_j} - 3(N+1)$$

Keterangan : N = Σ sampel keseluruhan
n = Σ sampel tiap ulangan

$$\begin{aligned} H_{hitung} &= \frac{12}{24(24+1)} \times \frac{(1369+3906,25+7310,25+13225)}{6} - 3(24+1) \\ &= \frac{12}{600} \times \frac{25810,5}{6} - 75 \\ &= 0,02 \times 4226,75 \\ &= 84,535 \end{aligned}$$

Karena dalam data terdapat angka kembar, maka dimasukkan rumus H_{hitung} terkoreksi sebagai berikut :

$$H_{hitung} \text{ terkoreksi} = \frac{H_{hitung}}{1 - \frac{T}{N^3 - 1}}$$

Dimana, $T = t^3 - t$

T : Jumlah angka kembar

$$T1 = 9^3 - 9 = 720$$

$$T2 = 5^3 - 5 = 120$$

$$T3 = 4^3 - 4 = 60$$

$$T4 = 1^3 - 1 = 0$$

$$T5 = 3^3 - 5 = 120$$

$$1020$$

$$\begin{aligned}
 H_{\text{hitung terkoreksi}} &= \frac{84,535}{1 - \frac{1020}{24^3 - 24}} = \frac{84,535}{1 - 0,074} \\
 &= \frac{84,535}{0,926} \\
 &= 91,29
 \end{aligned}$$

Untuk db = 3, maka $H_{\text{tabel}}(0,05) = 7,815$
 $H_{\text{tabel}}(0,01) = 11,345$

Jadi, $H_{\text{hitung}} > H_{\text{tabel}}$

Kesimpulan : Terdapat perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan ($p < 0,01$)

Lampiran 3. Uji Pasangan Berganda Z

Untuk mengetahui perlakuan manakah yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan Uji Pasangan Berganda Z dengan taraf signifikan 5%.

Rumus :

$$\left| \bar{R}_1 - \bar{R}_j \right| > Z_{\alpha} / k(k-1) \sqrt{\frac{n(n+1)}{12} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_j} \right)}$$

$$Z_{0,05/4(3)} = Z_{0,0042} = 2,63 \sqrt{\frac{24(24+1)}{12} \left(\frac{1}{6} + \frac{1}{6} \right)}$$

$$= 2,63 \cdot 4,082 = 10,74$$

$$\left| \bar{R}_1 - \bar{R}_2 \right| = \left| 6,17 - 10,42 \right| = 4,25 < 10,74 \text{ (tidak berbeda nyata).}$$

$$\left| \bar{R}_1 - \bar{R}_3 \right| = \left| 6,17 - 14,25 \right| = 8,08 < 10,74 \text{ (tidak berbeda nyata).}$$

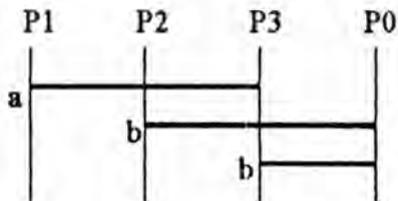
$$| \bar{R}_1 - \bar{R}_0 | = | 6,17 - 19,17 | = 13 > 10,74 \text{ (berbeda nyata).}$$

$$| \bar{R}_2 - \bar{R}_3 | = | 10,42 - 14,25 | = 3,83 < 10,74 \text{ (tidak berbeda nyata).}$$

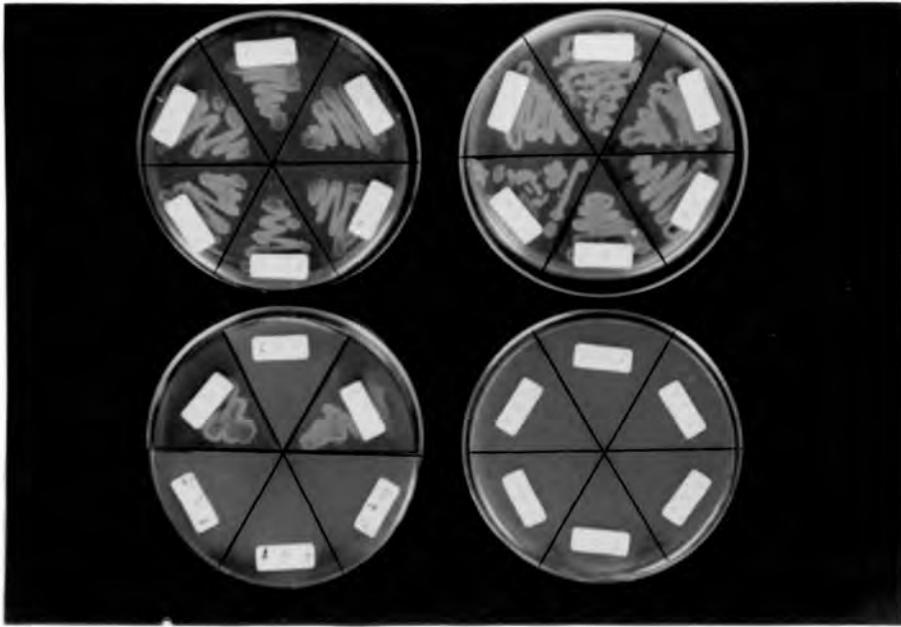
$$| \bar{R}_2 - \bar{R}_0 | = | 10,42 - 19,17 | = 8,75 < 10,74 \text{ (tidak berbeda nyata).}$$

$$| \bar{R}_3 - \bar{R}_0 | = | 14,25 - 19,17 | = 4,92 < 10,74 \text{ (tidak berbeda nyata).}$$

Notasi :



Kesimpulan : Dari uji Z (5%) dapat diketahui bahwa perlakuan pertama (P1) berbeda nyata dengan perlakuan kontrol (P0) tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lain.

Lampiran 4. Gambar Penelitian.

Gambar 1. Isolat bakteri dalam media SSA dari perlakuan P1, P2, P3 dan P0 (searah jarum jam mulai sebelah kanan bawah).



Gambar 2. Hasil uji biokimia koloni bakteri yang berwarna kuning jernih (*Salmonella pullorum*).

Lampiran 5. Skema Pengenceran Suspensi Bakteri *Salmonella pullorum*

Lampiran 6. Komposisi Acid PAK 4 Way.

Setiap Kg Acid PAK 4 Way mengandung :

- Sodium min. 1,5% maks. 2,5%.
- Potassium min. 1,3%.
- Enzim Amilase 440,000 units/gr.
- Enzim Protease 330,000 units/gr.
- *Lactobacillus acidophilus* (NCL 84) min. 100 juta CFU/gr'.
- *Streptococcus faecium* (NCS 97) min. 100 juta CFU/gr'.

Lampiran 7. Tabel χ^2 .

d.f.	χ .05	χ .025	χ .01	χ .005	d.f.
1	3.841	5.024	6.635	7.879	1
2	5.991	7.378	9.210	10.597	2
3	7.815	9.348	11.345	12.838	3
4	9.488	11.143	13.277	14.860	4
5	11.070	12.832	15.088	16.750	5
6	12.592	14.449	16.812	18.548	6
7	14.067	16.013	18.475	20.278	7
8	15.507	17.535	20.090	21.955	8
9	16.919	19.023	21.666	23.589	9
10	18.307	20.483	23.209	25.188	10
11	19.675	21.920	24.725	26.757	11
12	21.026	23.337	26.217	28.300	12
13	22.362	24.736	27.688	29.819	13
14	23.685	26.119	29.141	31.319	14
15	24.998	27.488	30.578	32.801	15
16	26.296	28.845	32.000	34.267	16
17	27.587	30.191	33.409	35.718	17
18	28.869	31.526	34.805	37.156	18
19	30.144	32.852	36.191	38.582	19
20	31.410	34.170	37.566	39.997	20
21	32.671	35.479	38.932	41.401	21
22	33.924	36.781	40.289	42.796	22
23	35.172	38.076	41.638	44.181	23
24	36.415	39.364	42.980	45.558	24
25	37.652	40.646	44.314	46.928	25
26	38.885	41.923	45.642	48.290	26
27	40.113	43.194	46.963	49.645	27
28	41.337	44.461	48.278	50.993	28
29	42.557	45.722	49.588	52.036	29
30	43.773	46.979	50.892	53.672	30

Lampiran 8. Tabel Z

z	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0.0	0.5000	0.4980	0.4920	0.4880	0.4840	0.4801	0.4781	0.4721	0.4681	0.4641
0.1	0.4802	0.4562	0.4522	0.4483	0.4443	0.4404	0.4384	0.4325	0.4286	0.4247
0.2	0.4207	0.4168	0.4129	0.409	0.4052	0.4013	0.3974	0.3936	0.3897	0.3859
0.3	0.3821	0.3783	0.3745	0.3707	0.3669	0.3632	0.3594	0.3557	0.3520	0.3483
0.4	0.3448	0.3409	0.3372	0.3336	0.3300	0.3264	0.3228	0.3192	0.3156	0.3121
0.5	0.3085	0.3050	0.3015	0.2981	0.2948	0.2912	0.2877	0.2843	0.2810	0.2778
0.6	0.2743	0.2709	0.2676	0.2643	0.2611	0.2578	0.2546	0.2514	0.2483	0.2451
0.7	0.2420	0.2389	0.2359	0.2327	0.2296	0.2266	0.2236	0.2206	0.2177	0.2149
0.8	0.2119	0.2090	0.2061	0.2033	0.2005	0.1977	0.1949	0.1922	0.1894	0.1867
0.9	0.1841	0.1814	0.1788	0.1762	0.1736	0.1711	0.1685	0.1660	0.1635	0.1611
1.0	0.1587	0.1562	0.1539	0.1515	0.1492	0.1469	0.1446	0.1423	0.1401	0.1379
1.1	0.1357	0.1335	0.1314	0.1292	0.1271	0.1251	0.1230	0.1210	0.1190	0.1170
1.2	0.1151	0.1131	0.1112	0.1093	0.1075	0.1058	0.1038	0.1020	0.1003	0.0985
1.3	0.0968	0.0951	0.0934	0.0918	0.0901	0.0885	0.0869	0.0853	0.0838	0.0823
1.4	0.0808	0.0793	0.0778	0.0764	0.0749	0.0735	0.0721	0.0708	0.0694	0.0681
1.5	0.0668	0.0655	0.0643	0.0630	0.0618	0.0608	0.0594	0.0582	0.0571	0.0559
1.6	0.0548	0.0537	0.0526	0.0516	0.0505	0.0495	0.0485	0.0475	0.0465	0.0455
1.7	0.0446	0.0436	0.0427	0.0418	0.0409	0.0401	0.0392	0.0384	0.0375	0.0367
1.8	0.0359	0.0351	0.0344	0.0336	0.0329	0.0322	0.0314	0.0307	0.0301	0.0294
1.9	0.0287	0.0281	0.0274	0.0268	0.0262	0.0256	0.0250	0.0244	0.0239	0.0233
2.0	0.0228	0.0222	0.0217	0.0212	0.0207	0.0202	0.0197	0.0192	0.0188	0.0183
2.1	0.0179	0.0174	0.0170	0.0166	0.0162	0.0158	0.0154	0.0150	0.0146	0.0143
2.2	0.0139	0.0136	0.0132	0.0129	0.0125	0.0122	0.0119	0.0116	0.0113	0.0110
2.3	0.0107	0.0104	0.0102	0.0099	0.0096	0.0094	0.0091	0.0089	0.0087	0.0084
2.4	0.0082	0.0080	0.0078	0.0075	0.0073	0.0071	0.0069	0.0068	0.0066	0.0064
2.5	0.0062	0.0060	0.0059	0.0057	0.0055	0.0054	0.0052	0.0051	0.0049	0.0048
2.6	0.0047	0.0045	0.0044	0.0043	0.0041	0.0040	0.0039	0.0038	0.0037	0.0036
2.7	0.0035	0.0034	0.0033	0.0032	0.0031	0.0030	0.0029	0.0028	0.0027	0.0026
2.8	0.0026	0.0025	0.0024	0.0023	0.0023	0.0022	0.0021	0.0021	0.0020	0.0019
2.9	0.0019	0.0018	0.0018	0.0017	0.0016	0.0016	0.0015	0.0015	0.0014	0.0014
3.0	0.0013	0.0013	0.0013	0.0012	0.0012	0.0011	0.0011	0.0011	0.0010	0.0010
3.1	0.0010	0.0009	0.0009	0.0009	0.0008	0.0008	0.0008	0.0008	0.0007	0.0007
3.2	0.0007									
3.3	0.0005									
3.4	0.0003									
3.5	0.00023									
3.6	0.00016									
3.7	0.00011									
3.8	0.00007									
3.9	0.00005									
4.0	0.00003									