

SKRIPSI

PENGARUH PROBIOTIK TERHADAP PATOLOGI
ANATOMI CAECUM UJI BAKTERIOLOGI
Salmonella pullorum PADA ANAK AYAM



OLEH :

LELY DELIMA SAKIYO

MEDAN – SUMATERA UTARA

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

PENGARUH PROBIOTIK TERHADAP PATOLOGI ANATOMI
CAECUM DAN 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

LELY DELIMA SAKIYO

NIM 069311979

Menyetujui,

Komisi Pembimbing,



(Hj. Sorini Soehartojo, Drh)
Pembimbing Pertama



(Eka Pramytha H., Mkes., 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.

lebar penguji
Jadwal
Mengkonfirmasi

Menyetujui,

Panitia Penguji,



Suryanie Sarudji, M.Kes., drh

Ketua

R 1
Rany 1

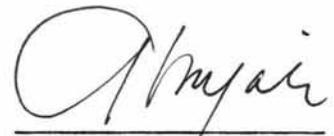

Angela Mariana Lusiastuti, M.Si., drh

Sekretaris



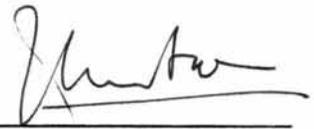
Hj. Sorini Soehartojo, drh

Anggota



Ajik Azmijah S.U., drh

Anggota



Eka Pramytha H., M.Kes., drh

Anggota

Surabaya, 21 Agustus 1998

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan, *FKH*
Unggul



Dr. Ismudiono, M.S., drh

NIP. 130687297

PENGARUH PROBIOTIK TERHADAP PATOLOGI ANATOMI**CAECUM DAN UJI BAKTERIOLOGI *Salmonella pullorum*****PADA ANAK AYAM****LELY DELIMA SAKIYO****ABSTRAK**

Penelitian ini telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh probiotik terhadap patologi anatomi dan hasil uji bakteriologi caecum anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum* secara oral apabila diberikan sebelum, setelah maupun sebelum dan setelah (kombinasi) infeksi.

Sejumlah 24 ekor anak ayam petelur jantan ras CP 907 berumur satu hari (DOC) sebagai hewan percobaan. Probiotik yang diberikan adalah Acid Pak 4 Way yang mengandung *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus faecium*. Desain percobaan yang dipakai adalah Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas empat perlakuan dengan enam ulangan. Data dianalisis dengan menggunakan Uji Kruskal Wallis yang dilanjutkan dengan Uji Z.

Probiotik diberikan melalui air minum dengan dosis satu gram per liter air minum. Perlakuan 0 (P₀) anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum* tanpa menerima probiotik (kontrol sakit). Perlakuan 1 (P₁) anak ayam menerima probiotik delapan hari berturut-turut sebelum diinfeksi *Salmonella pullorum*. Perlakuan 2 (P₂) anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum* lalu diberi probiotik selama tujuh hari berturut-turut tiga hari pasca infeksi. Perlakuan 3 (P₃) anak ayam diberi probiotik delapan hari berturut-turut, lalu diinfeksi kemudian diberi probiotik kembali selama tujuh hari berturut-turut tiga hari pasca infeksi. Infeksi dilakukan sekali pada saat anak ayam berumur 10 hari yang dilakukan secara oral. Pengamatan caecum dan uji bakteriologi dilakukan pada hari kesepuluh pasca infeksi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa probiotik yang diberikan pada kelompok perlakuan P₁, P₂ dan P₃ mampu mencegah kerusakan caecum akibat *Salmonella pullorum*. Hasil uji bakteriologi menunjukkan hasil negatif untuk semua anak ayam perlakuan P₁ dan P₃. Untuk perlakuan P₂ terdapat hasil positif pada anak ayam nomor 3 dan 5, sedangkan untuk anak ayam yang lain memberikan hasil negatif.

Kesimpulan yang didapat adalah bahwa probiotik mampu mencegah kerusakan caecum akibat *Salmonella pullorum* dan mengeliminasi bakteri tersebut keluar saluran pencernaan anak ayam.

KATA PENGANTAR

Mengucap puji syukur kehadirat Allah S.W.T atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Dengan rasa hormat, penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Ibu Hj. Sorini Soehartojo, Drh (pembimbing pertama) dan Ibu Eka Pramytha H., Mkes., Drh (pembimbing kedua) yang telah memberikan bimbingan, saran dan nasehat yang sangat berguna dalam penyusunan skripsi ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Dr. Ismudiono, M.S., Drh (Dekan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga), Ibu Dr. Roostita Balia, M.AppSc., Drh (Dosen Laboratorium Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga) dan seluruh staf dan karyawan Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas sarana dan bantuan yang diberikan dalam melaksanakan penelitian ini.

Kepada ayah dan ibu tercinta penulis menyampaikan terima kasih atas dorongan semangat dan doa restunya.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan serta perhatiannya, penulis juga menyampaikan banyak terima kasih.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih belum sempurna, maka kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan tulisan ini.

Semoga segala bantuan dan kebaikan yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan yang berlipat ganda dari Allah S.W.T. Amien.

Surabaya, Mei 1998

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II. 1. Tinjauan Penyakit Pullorum.....	5
II. 1. 1. Etiologi dan Morfologi	5
II. 1. 2. Penyebaran Penyakit dan Cara Penularan	5
II. 1. 3. Sifat Biokimiawi.....	6
II. 1. 4. Hewan Terserang.....	7
II. 1. 5. Kerugian	8
II. 1. 6. Gejala Klinis	9
II. 1. 7. Perubahan Pasca Mati.....	9
II. 1. 8. Diagnosa Penyakit	10
II. 1. 9. Pengobatan.....	11
II. 1.10. Pengendalian.....	11
II. 2. Tinjauan Probiotik.....	11
II. 2. 1. Sejarah	11
II. 2. 2. Definisi	12
II. 2. 3. Pemilihan Jenis Bakteri	13

II. 2. 4. Substansi Esensial yang Diproduksi oleh Mikroflora	
Probiotik	14
II. 2. 5. Keuntungan dari Penggunaan Probiotik	15
II. 2. 6. Mekanisme Kerja.....	16
II. 2. 7. Persamaan dan Perbedaan Probiotik dengan Antibiotika.....	18
II. 2. 8. Keamanan Probiotik	18
III. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	21
III. 1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
III. 2. Materi Penelitian.....	21
III. 2. 1. Kandang.....	21
III. 2. 2. Alat Penelitian	22
III. 2. 3. Anak Ayam.....	22
III. 2. 4. Isolat <i>Salmonella pullorum</i>	23
III. 2. 5. Makanan	23
III. 2. 6. Probiotik	23
III. 2. 7. Media Uji Bakteriologi.....	23
III. 3. Metode Penelitian	24
III. 3. 1. Pembuktian Isolat <i>Salmonella pullorum</i>	24
III. 3. 2. Pembuatan Suspensi Bakteri.....	26
III. 3. 3. Perlakuan Penelitian	27
III. 3. 4. Tehnik Bedah Bangkok.....	29
III. 3. 5. Uji Bakteriologi	29
III. 4. Rancangan Penelitian.....	30

III. 5. Perubahan yang Diamati.....	30
III. 6. Analisa Data.....	30
IV. HASIL PENELITIAN	31
V. PEMBAHASAN	36
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	42
VI. 1. Kesimpulan.....	42
VI. 2. Saran	42
RINGKASAN	44
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1	Toksisitas Akut dari Bakteri Probiotik	19
2	Hasil Analisa Statistik dan Simpangan Baku	32
3	Hasil Uji Bakteriologis Pada Setiap Anak Ayam pada Hari Kesepuluh Pasca Infeksi	33

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	Skema Perlakuan yang Diberikan pada Anak Ayam.....	28
2	Hasil Isolasi dari Setiap Caecum Keempat Perlakuan	34
3	Hasil Identifikasi Koloni yang Berwarna Merah pada <i>Salmonella</i> <i>Shigella Agar</i>	35
4	Hasil Identifikasi Koloni yang jernih pada <i>Salmonella</i> <i>Shigella Agar</i>	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1	Skor Hasil Pengamatan Patologi Anatomi Caecum Seluruh Anak Ayam hari Kesepuluh Pasca Infeksi49
2	Analisis Statistik Skor Patologi Anatomi Caecum Empat Kelompok Anak Ayam Percobaan50
3	Komposisi Acid Pak 4 Way.....54
4	Tabel Nilai X^255
5	Tabel Z.....56

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Masalah

Pullorum adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella pullorum*. Penyakit ini menyerang ternak ayam terutama anak ayam. Anak ayam yang terserang akan mengalami terhambatnya laju pertumbuhan, penurunan berat badan dan dapat menimbulkan kematian. Kematian pada anak ayam berkisar antara 50 % - 90 %. Sedangkan kematian pada ayam dewasa berkisar antara 15 % - 20 % (Biester dan Schwartz, 1965; Anonimus, 1981).

Selama ini tindakan pengobatan dilakukan dengan memberikan antibiotika, sulfonamid dan antibakterial lain. Penggunaan antibiotika menimbulkan berbagai masalah baru, antara lain adanya resistensi bakteri patogen terhadap antibiotika serta kemungkinan adanya residu antibiotika pada produk ternak yang dapat membahayakan konsumen yang mengkonsumsi daging ternak tersebut (Fiems *et al.*, 1991). Adanya kerugian terhadap penggunaan antibiotika tersebut, maka mendorong timbulnya kembali pola pemanfaatan bakteri alami untuk membuat keseimbangan bakteri yang bermanfaat di dalam saluran pencernaan. Bakteri alami ini dikenal sebagai probiotik (untuk kehidupan), jadi merupakan kebalikan dari antibiotika (anti hidup).

Probiotik berarti suatu preparat yang terdiri dari bakteri hidup, yang dimasukkan ke dalam tubuh manusia atau ternak secara oral, diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan manusia atau ternak yang

dimaksud. Bakteri alami yang terdapat dalam saluran pencernaan mempunyai peran yang sangat penting bagi kesehatan dan kebugaran tubuh. Alasan tersebut di atas memungkinkan tehnik probiotik diterapkan untuk meningkatkan kesehatan saluran pencernaan serta sistem imunitas tubuh (Winarno, 1997).

Semula pemanfaatan probiotik adalah hanya untuk meningkatkan kesehatan khususnya kesehatan manusia, tetapi akhir-akhir ini banyak penelitian tentang manfaat probiotik untuk kesehatan dan produksi ternak serta mencegah penyakit. Kini mulai berkembang penggunaan probiotik untuk broiler, sapi perah dan ayam petelur. Probiotik mempunyai spektrum antimikroba terhadap kelompok bakteri *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraensius*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus cereus* dan *Yersinia enterocolitica* (Soeharsono, 1997; Rahayu, 1997).

Probiotik mempunyai beberapa fungsi, salah satunya adalah mengontrol penyakit dengan mendesak mikroorganisme patogen keluar dari dalam tubuh dan membantu merangsang kerja mikroorganisme sejenis sehingga dapat memulihkan kembali keseimbangan flora usus sehingga mencapai kondisi normal serta menghasilkan pengaruh yang menguntungkan. Probiotik juga menstimulasi sistem imunitas tubuh serta peningkatan ketahanan terhadap infeksi (Soeharsono, 1997; Winarno, 1997).

Menurut Snoeyenbos *et al.* yang dikutip Billgili dan Moran (1990) pada unggas *Salmonella spp.* Berkoloni di saluran pencernaan termasuk caecum. Menurut Soerjadi *et al.*, Stavric *et al.* dan Nevola *et al.* yang dikutip oleh Billgili dan Moran (1990) menyatakan bahwa bakteri alami yang hidup di caecum akan menghalangi

masuknya bakteri *Salmonella spp.* ke dalam mukosa. Gilliland dan Speck, Barnes *et al.* yang dikutip oleh Billgili dan Moran (1990) menyatakan bahwa bakteri tersebut juga mengeluarkan produk metabolit yang menghasilkan suatu lingkungan yang tidak sesuai bagi *Salmonella*.

I.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut di atas, maka timbul suatu permasalahan :

1. Bagaimana pengaruh probiotik terhadap patologi anatomi caecum anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum* secara oral apabila diberikan sebelum, setelah maupun sebelum dan setelah (kombinasi) anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum* ?
2. Bagaimana pengaruh probiotik terhadap uji bakteriologi caecum anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum* secara oral apabila diberikan sebelum, setelah maupun sebelum dan setelah (kombinasi) anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum* ?

I.3. Landasan Teori

Probiotik yang terdapat dalam saluran pencernaan mampu menetralkan toksin yang dihasilkan bakteri patogen, menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan mencegah kolonisasinya di dinding saluran pencernaan (Tambuwun, 1995).

Probiotik biasanya mengandung bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Bifidobacteria*, *Streptococcus* dan lain-lain. Bakteri-bakteri ini menghasilkan asam

laktat yang efektif melawan bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Ray, 1996). Bakteri patogen yang telah dilemahkan kemudian didesak keluar saluran pencernaan dengan dibantu oleh gerakan peristaltik usus yang aktivitasnya diperbaiki oleh probiotik (Soeharsono, 1997; Ray, 1996).

I.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian probiotik terhadap patologi anatomi caecum dan hasil uji bakteriologi *Salmonella pullorum* pada anak ayam.

I.5. Hipotesa Penelitian

Karena probiotik mampu mencegah kolonisasi *Salmonella pullorum* dan mengeliminasi keluar saluran pencernaan, maka :

1. Probiotik dapat mencegah kerusakan caecum anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum*.
2. Probiotik dapat memberikan hasil yang negatif pada uji bakteriologis anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum*.

I.6. Manfaat Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi data tentang kegunaan probiotik dalam kesehatan hewan dan dapat dijadikan suatu pertimbangan sebagai salah satu alternatif pengganti antibiotika.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tinjauan Penyakit Pullorum

II.1.1. Etiologi dan Morfologi

Penyebab penyakit Pullorum ditemukan pertama kali pada tahun 1899, yaitu sejenis kuman yang dinamakan *Salmonella pullorum* (Hofstad, 1984).

Salmonella pullorum merupakan kuman berbentuk batang langsing dengan ukuran panjang 1 sampai 2,5 mikron dan lebar 0,3 sampai 0,5 mikron, bersifat Gram negatif, tidak bergerak, tidak membentuk spora dan tidak berkapsul. Bakteri *Salmonella pullorum* tumbuh optimum pada temperatur 37⁰ C dan pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) membentuk koloni yang terpisah-pisah, jernih serta tembus pandang (Hagan dan Brunner, 1981).

II.1.2. Penyebaran Penyakit dan Cara Penularan

Penyakit Pullorum adalah penyakit infeksius yang menyerang ternak ayam baik pada anak ayam maupun ayam dewasa. Infeksi penyakit ini pada anak ayam berjalan secara akut, sedangkan pada ayam dewasa umumnya berjalan secara kronis. Penyakit tersebut disebut juga *Baccillary White Diarrhea* atau diare putih anak ayam, *Pullorum seuce* atau tifus ayam dan di Indonesia dikenal sebagai Penyakit Berak Kapur (Ressang, 1984).

Penyakit Pullorum sudah dikenal lama dan tersebar di seluruh dunia. Sejak tahun 1900 penyakit Pullorum telah ditemukan di Amerika Serikat pada anak ayam dengan tanda-tanda septikemia akut dan bersifat fatal. Di Australia penyakit

Pullorum ditemukan pada tahun 1921 kemudian disusul dengan penemuan penyakit yang sama di Jepang pada tahun 1923. Sejak berakhirnya Perang Dunia I penyakit Pullorum telah tersebar luas di benua Eropa, Amerika dan Asia (Hofstad, 1984; Hungerford, 1969).

Di Indonesia, penyakit Pullorum sering ditemukan pada ayam ras dan secara serologis dapat dibuktikan dengan uji aglutinasi cepat pada darah ayam (Sri Purnomo, 1972).

Penularan *Salmonella pullorum* dapat terjadi secara oral bersama makanan dan minuman, aerogen melalui udara yang tercemar biasanya melalui alat penetas, bulu, debu, kotoran hewan tertular dan alat potong paruh. Cara lain penularan kuman *Salmonella pullorum* yang merupakan cara penularan terpenting adalah kongenital melalui telur dan transovarial (Hofstad, 1984). Selain melalui mulut, hidung dan secara kongenital, kuman *Salmonella pullorum* dapat masuk melalui konjungtiva, goresan kulit, kloaka, kontak langsung, memakan telur, kanibalisme dan lalat juga dapat menularkan penyakit ini (Merchant dan Parker, 1971; Gordon dan Jordan, 1982).

II.1.3. Sifat Biokimiawi

Salmonella pullorum tumbuh pada suhu optimum 37⁰ C dan bersifat aerob atau fakultatif anaerob. Sifat biokimiawi *Salmonella pullorum* antara lain membentuk hidrogen disulfida (H₂S) membentuk asam dan gas dari glukosa, memfermentasi manosa tetapi tidak memfermentasi laktosa. Maltosa dapat difermentasi tetapi jarang, sedang sukrosa umumnya tidak difermentasi. *Salmonella*

pullorum tidak mempunyai enzim urease dan menggunakan unsur karbon dari sumber sitrat (Hofstad, 1984; Kingscote, 1989).

Isolasi *Salmonella pullorum* membutuhkan media selektif. Media selektif yang biasa digunakan untuk menumbuhkan dan memperbanyak *Salmonella pullorum* adalah *Salmonella Shigella Agar (SSA)*, *Mac Conkey Agar* dan *Endo Agar*. *Salmonella pullorum* pada media ini menunjukkan pertumbuhan dengan membentuk koloni yang halus, bulat, tembus cahaya dan tidak berwarna. Koloni yang tumbuh berdesakan umumnya mempunyai diameter yang kecil (1 mm atau kurang dari 1 mm), tetapi koloni yang tumbuh sendiri kadang-kadang diameternya dapat mencapai 3 sampai 4 mm atau lebih. *Salmonella pullorum* pada media *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)* memberikan reaksi yaitu pada daerah yang miring (*slant*) berwarna merah (basa) dan pada bagian bawah (*butt*) berwarna kuning (asam), tampak pembentukan H_2S yang ditandai dengan adanya warna hitam dan juga pembentukan gas yang ditandai dengan pecahnya media atau terangkatnya media pada dasar tabung. Pertumbuhan *Salmonella pullorum* pada media *Sulfide Indol Motility (SIM)* merupakan garis putih pada bekas tusukan (sifat non motil), terdapat bentukan berwarna hitam yang menunjukkan adanya H_2S dan uji indol hasilnya negatif (Jang *et al.*, 1976; Jackson dan Simmons, 1981; Hofstad, 1984).

II.1.4. Hewan Terserang

Diantara golongan unggas, ayam merupakan ternak yang paling sering terserang *Salmonella pullorum* sehingga menimbulkan kerugian yang cukup besar bagi peternak ayam (Brunner dan Giellespie, 1973).

Selain pada ayam, kuman *Salmonella pullorum* juga menyerang kalkun, itik, burung gereja, angsa, burung puyuh, pheasant, burung kenari, European bullfinches dan urus. Mamalia yang dapat terinfeksi kuman *Salmonella pullorum* baik secara alami maupun secara eksperimental antara lain kelinci, babi, guinea, chinchillas, anak kucing, rubah, anjing, babi hutan, mink, induk sapi dan tikus liar (*Rattus norvegicus*). Manusia juga dapat terinfeksi kuman *Salmonella pullorum* (Hofstad, 1984).

II.1.5. Kerugian

Penyakit Pullorum menyebabkan kerugian yang tidak sedikit, hal ini dirasakan oleh peternak unggas. Sejak dilaporkan pada abad ke-19, kerugian yang terjadi makin lama makin bertambah besar. Hal tersebut disebabkan oleh kejadian penyakit Pullorum yang makin bertambah banyak dan meluas (Biester dan Schwartz, 1965).

Penyakit Pullorum sangat meresahkan peternak ayam pada umumnya dan peternak penghasil bibit ayam (breeder) pada khususnya, karena penyakit ini menimbulkan kerugian berupa menurunnya daya tetas telur dan kematian terutama pada anak ayam dengan angka kematian (mortalitas) 90 % (Rumawas, 1976). Sedangkan pada ayam dewasa menimbulkan penurunan produksi, baik penurunan laju pertambahan berat badan ataupun penurunan produksi telur (Anonimus, 1981; Merchant dan Parker, 1971).

II.1.6. Gejala Klinis

Anak ayam yang terinfeksi melalui udara atau aerogen yang biasanya terjadi pada mesin tetas akan menyebabkan radang pada paru-paru dan kantong hawa sehingga ayam menjadi sesak nafas, hal ini harus dibedakan dari kesulitan bernafas pada Bronchitis Infektiosa dan NCD (New Castle Disease) (Ressang, 1984). Anak ayam yang terserang penyakit Pullorum terlihat mengantuk, bergerombol di sekitar pemanas, nafsu makan berkurang, sayap menggantung, lemah dan distorsi tubuh (Hofstad, 1984). Permulaan penyakit terlihat diare hijau yang lambat laun berubah menjadi putih (diare putih) dan di sekitar dubur anak ayam tersebut menggumpal tinja kering dan putih yang menyerupai tahu atau kapur (Ressang, 1984; Hofstad, 1984).

Gejala penyakit pada ayam dewasa sukar dilihat, tetapi kadang-kadang terlihat tanda-tanda depresi, kekurusan, anemia, diare dan produksi telur menurun (Anonimus, 1981).

Penderita Pullorum dapat sembuh dan akan bertindak sebagai karier dengan produksi dan daya tetas telur rendah, akan tetapi ada juga telur yang dapat menetas walaupun anak ayam yang baru menetas itu telah mengandung kuman *Salmonella pullorum* (Hungerford, 1969; Seneviratna, 1969).

II.1.7. Perubahan Pasca Mati

Anak ayam yang mati segera setelah menetas, perubahan yang terjadi pada organ tubuhnya kurang jelas dan terbatas. Hati tampak membesar dan kongesti. Permukaan hati dapat bergaris-garis kemerahan (hemoragis) dan kadang-kadang disertai adanya foki-foki nekrotis. Selain itu hati sering diliputi eksudat berfibrin

yang meliputi organ-organ lain di perut. Pada lapisan subkapsular dan parenkim hati sering memperlihatkan titik-titik berdarah. Pecahnya pembuluh darah pada hati adalah suatu keadaan yang juga sering terjadi sehingga darah mengisi rongga perut. Jantung mengalami dilatasi dan distorsi disertai jejas berbentuk nodula-nodula berwarna putih keabu-abuan dan perikardium mengalami penebalan disertai penimbunan cairan fibrin di dalam maupun di luarnya. Limpa membesar dengan perubahan jejas nekrotis milier (Biester dan Schwartz, 1965; Hofstad, 1984).

Foki-foki nekrotis atau nodul-nodul dapat terlihat pada otot jantung, hati, paru-paru, caecum, usus besar dan otot lambung. Pericarditis sering terlihat pada beberapa kasus. Ginjal kongesti atau anemia dengan ureter berisi asam urat. Caecum berisi bentukan seperti keju yang kadang-kadang bercampur darah. Dinding usus besar menebal dan terjadi peritonitis. Menurut Doyle dan Mathews yang dikutip Hofstad (1984) menyatakan bahwa hati adalah organ yang paling banyak mengalami perubahan patologi anatomi dan diikuti oleh paru-paru, jantung, lambung dan caecum. Pada anak ayam, paru-paru akan mengalami pneumonia hemoragika. Nodul-nodul pada myocardium akan terlihat karena distorsi dari jantung (Anonimus, 1981; Hofstad, 1984; Biester dan Schwartz, 1965).

Ayam dewasa yang terkena, ovariumnya tampak mengalami perubahan yaitu adanya folikel- folikel telur yang atrofi (Ressang, 1984).

II.1.8. Diagnosa Penyakit

Diagnosa terhadap penyakit Pullorum dilakukan dengan melihat sejarah kelompok, gejala klinis, perubahan pasca mati, uji serologis dan isolasi identifikasi di laboratorium. Uji Serologis dapat dilakukan dengan cara : *'standart tube*

agglutination , *'stained antigen - rapid whole blood test'* dan *'rapid serum'* (Anonimus, 1992).

II.1.9. Pengobatan

Usaha pengobatan sampai sekarang tidak memberikan hasil yang memuaskan. Beberapa jenis sulfonamid , antibiotika dan antibakterial lain hanya efektif dalam menekan jumlah kematian tetapi tidak menghilangkan infeksi sama sekali (Anonimus,1981).

II.1.10.Pengendalian

Usaha pengendalian dan pemberantasan penyakit *Pullorum* melalui pengobatan tidak dapat memberikan hasil seperti yang diharapkan, karena itu tindakan pencegahan penyakit memegang peranan penting dalam hal ini. Usaha pencegahan penyakit terutama ditekankan pada sanitasi kandang, makanan, minuman, halaman, fumigasi peralatan termasuk seleksi pemasukan ternak dan ternak yang dipilih harus benar-benar bebas dari bakteri *Salmonella Pullorum* (Anonimus,1981).

II.2. Tinjauan Probiotik

II.2.1. Sejarah

Sejak tahun 1970 penggunaan antibiotika di Indonesia sangat intensif, khususnya pada unggas. Di Amerika Serikat, satu negara maju 45 % sampai 55 % antibiotika digunakan untuk hewan. Antibiotika yang biasanya digunakan antara lain aureomisin, basitrasin, khloramphenicol, lincomisin, tetrasiklin dan lain-lain baik

yang dikombinasi dengan vitamin maupun tidak. Penggunaan antibiotika jangka panjang dengan dosis kecil menimbulkan masalah, karena sudah tidak disangsikan lagi menimbulkan residu pada daging, susu dan telur. Apalagi bila antibiotika tersebut bukan alami tetapi sintetik. Kondisi ini mendorong ilmuwan untuk mencari alternatif lain, karena dengan adanya residu dan atau zat toksik yang untuk beberapa produk antibiotika metabolitnya dapat merupakan karsinogenik, tentunya sangat berbahaya bagi kesehatan manusia.

Saat ini diketahui banyak bakteri yang bermanfaat bagi kesehatan manusia maupun hewan bahkan tumbuh-tumbuhan dengan mekanisme kerja mendesak bakteri patogen. Bakteri tersebut dikelompokkan ke dalam probiotik (Soeharsono, 1997).

II.2.2. Definisi

Konsep probiotik telah digunakan sejak tahun 1900-an, tetapi 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 oleh bakteri lain, dengan kata lain probiotik merupakan istilah lawan kata antibiotika (Winarno, 1997).

Bersamaan dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, makna probiotik menjadi luas, misalnya seperti pada tahun 1971 menyatakan bahwa probiotik adalah ekstrak jaringan tubuh yang menstimulir pertumbuhan bakteri. Fuller (1989) membuat definisi baru bahwa probiotik adalah *feed supplement* terdiri atas bakteri hidup yang secara menguntungkan mempengaruhi induk semang melalui perbaikan keseimbangan bakteri dalam saluran pencernaan. Stark dan Wilkinson pada tahun

1989 membuat definisi bahwa probiotik adalah suatu produk yang mengandung bakteri hidup dan non patogen yang diberikan pada hewan untuk memperbaiki ransum dan meningkatkan kesehatan hewan (Soeharsono,1997).

Saat ini istilah probiotik berarti suatu preparat yang terdiri dari bakteri hidup, yang dimasukkan ke dalam tubuh manusia atau ternak secara oral, diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan manusia atau ternak, dengan cara memperbaiki sifat-sifat yang dimiliki oleh bakteri alami yang tinggal di dalam tubuh manusia atau ternak yang dimaksud (Winarno, 1997).

II.2.3. Pemilihan Jenis Bakteri

Di negara maju telah dikembangkan suatu pedoman yang memuat kriteria yang ketat dalam seleksi pemilihan yang harus dilakukan agar mendapat strain yang aman dan memiliki fungsi probiotik yang tepat. Pilihan selalu jatuh pada bakteri asam laktat. Alasan menggunakan bakteri asam laktat karena jenis bakteri tersebut jarang sekali bersifat patogen. Secara tradisional bakteri asam laktat yang telah banyak digunakan adalah *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* (Winarno,1997).

Kini semakin banyak perhatian ilmuwan untuk menggunakan bakteri lain. Berikut bakteri yang telah banyak diteliti dan digunakan dalam probiotik : *Lactobacilli acidophilus*, *Lactobacilli plantarium*, *Lactobacilli casei*, *Lactobacilli casei spp rhamnosus*, *Lactobacilli delbruechii spp bulgaricus*, *Lactobacilli fermentin*, *Enterococcus faecin*, *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus lactis spp cremonis*, *Bifidobacterium bifidus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* (Winarno, 1997).

Parameter yang digunakan dalam seleksi strain bakteri yang memiliki daya fungsional probiotik adalah sebagai berikut : memiliki target khusus, strain yang telah diketahui sejarahnya, berpotensi untuk melakukan kolonisasi, stabilitas tinggi, aman, kebutuhan dosis, *host origin*, keaktifan biologis terhadap target dan daya hidup *in situ* (Anonimus, 1995 ; Winarno, 1997).

Suatu produk bakteri baru disebut sebagai probiotik bila memiliki kriteria sebagai berikut : dapat diproduksi dalam skala industri, stabil dalam jangka lama bila disimpan di lapangan, bakteri harus dapat kembali hidup di dalam usus dan harus memberikan manfaat bagi induk semang (Soeharsono, 1997).

Probiotik yang digunakan pada penelitian ini mengandung bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus faecium*. *Lactobacillus acidophilus* adalah bakteri Gram positif, berbentuk batang panjang dengan ujung membulat. Sifat biokimianya adalah katalase negatif, memfermentasi gula menjadi asam laktat sebagai produk utama, sedikit asam asetat, karbon dioksida dan produk lain sehingga disebut sebagai homofermentatif. Tumbuh pada suhu optimal 37⁰ C. Sedangkan *Streptococcus faecium* adalah bakteri Gram positif yang juga bersifat homofermentatif (Frazier dan Westhoff, 1988). Rahayu (1997) menyatakan bahwa kedua bakteri tersebut tahan terhadap asam.

II.2.4. Substansi Esensial yang Diproduksi oleh Bakteri Probiotik

Bakteri probiotik memproduksi substansi-substansi sebagai berikut :

1. Vitamin : B₁, B₂, Biotin, B₆, B₁₂, asam folic dan vitamin K.
2. Enzym : enzim pencernaan seperti laktase (esensial untuk mencerna produk-produk susu), enzim untuk mencerna lemak, protein dan lain-lain.

3. Asam lemak volatile : asam lemak rantai pendek ini membantu nutrisi dan melindungi membran mukosa. Asam lemak alami yang dihasilkan membantu mempertahankan keseimbangan yang penting bagi optimalisasi proses pencernaan.
4. Hal-hal lain yang baik untuk tubuh : seperti dihasilkannya bakteriosin yang juga melindungi tubuh, hal ini penting mengingat keadaan sekarang dimana orang sering mengalami stres dalam hidupnya¹.

Rahayu (1997), Hammes dan Tichaczek (1994) menyatakan bahwa bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat dan asam-asam lain yang menyebabkan pertumbuhan bakteri patogen menjadi tertekan, menurunkan pH, membunuh jenis bakteri patogen tertentu dan detoksikasi komponen makanan yang berbahaya bagi tubuh. Disamping itu, bakteri asam laktat juga menghasilkan komponen yang memiliki sifat antagonis terhadap bakteri lain seperti H₂O₂, diasetil dan bakteriosin.

II.2.5. Keuntungan dari Penggunaan Probiotik

Tehnik terapi bakteri oral biasanya menggunakan strain usus dari bakteri asam laktat, seperti misalnya *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Kedua jenis bakteri tersebut dapat memulihkan kembali keseimbangan flora usus, sehingga mencapai kondisi normal serta menghasilkan pengaruh yang menguntungkan (Winarno, 1997).

Berbagai keuntungan yang dapat diperoleh adalah : penurunan atau penekanan proses pembusukan dalam usus sehingga mencegah terjadinya konstipasi dan penyakit tua (geriatric disease), pencegahan dan pengobatan diare termasuk diare

¹ Probiotik Supplements The Most Important Supplement You can take. 1997. New Chapter , Inc. <http://www.newchapterinc.com/guide32.html>.

yang ada kaitannya dengan antibiotik, menstimulasi sistem imunitas tubuh serta peningkatan ketahanan terhadap infeksi (Winarno, 1997).

Secara biokemis, probiotik mempunyai efek sebagai berikut : mereduksi jumlah enzim yang mampu merubah ko-karsinogen menjadi karsinogen, menurunkan laktose intolerance, menurunkan serum kolesterol dan mempertahankan keseimbangan flora saluran pencernaan (Ray, 1996; Winarno, 1997).

Keuntungan dari pemakaian bakteri hidup adalah kemampuan mereka untuk melawan bakteri patogen, mensuplai enzim untuk membantu mencerna beberapa bahan makanan (seperti laktase untuk menghidrolisa laktosa) dan detoksikasi beberapa komponen makanan yang merugikan dan mengeluarkannya ke saluran pencernaan, menstimulasi sistem imun saluran pencernaan dan aktivitas peristaltik usus (Ray, 1996; Hammes dan Tichaczek, 1994).

II.2.6. Mekanisme Kerja

Probiotik adalah bakteri hidup non patogen yang mekanisme kerjanya mendesak bakteri non indogenous keluar dari ekosistem saluran pencernaan dan menggantikan lokasi bakteri patogen (translokasi) di dalam saluran pencernaan. Karena Probiotik berasal dari bakteri indogenous, maka proses translokasi adalah alamiah dalam ekosistem usus, dengan demikian mekanisme probiotik dalam usus ialah mempertahankan keseimbangan, mengeliminasi bakteri yang tidak diharapkan atau bakteri patogen dari induk semang (Soeharsono, 1997).

Di dalam usus terdapat bakteri walaupun dalam jumlah terbatas. Bakteri ini di dalam usus tinggal dalam suatu ekosistem yang komponennya terdiri atas makhluk biotik dan non biotik. Umumnya bakteri dalam ekosistem itu membentuk koloni.

Diperkirakan jumlah spesies bakteri dalam usus mencapai 400 spesies. Di antara 400 spesies ini ada yang antagonistik artinya bakteri tertentu akan menurunkan jumlah bakteri lainnya, ada yang sinergistik artinya ada ketergantungan satu dengan yang lain sehingga keduanya dapat berkembang dan pada beberapa probiotik bekerja secara simbiosis mutualisme dengan bakteri setempat (Soeharsono, 1997; Tambuwun, 1995).

Metabolisme setiap species sangat spesifik, sehingga secara keseluruhan metabolismenya sangat luas. Metabolisme tersebut sebagian besar menguntungkan induk semang, namun ada pula secara terbatas berupa *detrimental* yang merugikan induk semang. Bila bakteri patogen masuk, maka yang tadi merupakan *detrimental* menjadi berkembang atau lebih banyak. Zat yang terdapat dalam ekosistem usus dapat berasal dari eksogenus atau dari luar (dari pakan) dan dapat berasal dari bahan endogenus atau dari dalam tubuh yaitu produk metabolisme yang harus dibuang. Bakteri *detrimental* umumnya sangat aktif merombak zat yang terdapat dalam kolon, dan hasil akhir adalah metabolit toksik, karsinogenik atau metanogenik baik berasal dari bahan makanan beracun, obat-obatan, steroid maupun metabolit berasal dari bahan makanan. Metabolit toksik ini perlu segera dibuang, karena pada hewan-hewan yang peka metabolit ini sering menyebabkan kerusakan mukosa usus dan bahkan terbentuk tumor atau beberapa penyakit lain. Dalam kaitan ini probiotik v mendesak atau mengencerkan bakteri aktif di atas, atas perubahan pembentukan zat toksik dikurangi, sehingga sebelum terbentuk zat toksik, bahan tersebut sudah dibuang terlebih dahulu karena gerak peristaltik usus (Soeharsono, 1997).

II.2.7. Persamaan dan Perbedaan Probiotik dengan Antibiotik

Persamaan antara probiotik dengan antibiotik adalah dalam fungsinya, yaitu efek metabolisme, efek merangsang pembentukan zat makanan (*nutrient sparing effect*) dan mengontrol penyakit (*disease control*) (Soeharsono, 1997).

Perbedaannya ialah antibiotika langsung membunuh sedangkan probiotik hanya mendesak bakteri patogen atau membantu merangsang kerja bakteri sejenis. Hal lain adalah antibiotik merupakan zat kimia yang diserap di dalam usus, dapat menimbulkan residu dalam jaringan, dan dapat menyebabkan mutasi bakteri, sedangkan probiotik merupakan bakteri hidup, tanpa menyebabkan residu dan mutasi. Kerjanya hanya mendesak bakteri patogen keluar dari dalam tubuh (Soeharsono, 1997).

II.2.8. Keamanan Probiotik

Bakteri baru dan strain yang lebih spesifik telah mulai digunakan untuk tujuan probiotik dalam makanan. Sebelum dapat dimasukkan ke dalam makanan, strain baru bakteri tersebut harus secara sangat hati-hati diuji dan diperiksa secara baik terhadap keamanan maupun efektivitasnya bagi tujuan penggunaannya. Sayang belum ada pedoman resmi bagi tehnik pengujian dan evaluasi keamanan bagi probiotik. Berbagai aspek keamanan dari bakteri probiotik dapat diteliti dengan menggunakan metode *in vitro*, model hewan percobaan serta langsung pada manusia. Berikut adalah evaluasi aspek keamanan dari bakteri probiotik :

Uji *in vitro*

Salah satu persyaratan paling penting bagi suatu bakteri probiotik adalah harus bersifat non-invasive. Studi *in vitro* merupakan kegiatan awal yang penting

untuk mengetahui apakah organisme yang sedang diuji merubah atau merusak keutuhan mukosa usus dan mampu menembus sel-sel usus.

Degradasi mukosa usus telah pula digunakan sebagai suatu *marker* dari suatu proses keracunan. Strain yang tidak merusak mukosa usus atau glycoprotein disebut bersifat non-invasive. Biasanya bakteri tersebut stabil dalam pola fermentasi yang normal, tahan berkolonisasi dan tahan terhadap pH rendah.

Uji pada hewan

Studi keracunan akut telah dilakukan terhadap strain bakteri asam laktat dan sebagai pembanding digunakan strain *Bifidobacterium longum*. Tabel 1 menunjukkan pengujian bakteri dan tidak satupun memperlihatkan keracunan akut.

Tabel 1. Toksisitas Akut dari Bakteri Probiotik

Strain Probiotik	LD 50 (gr/Kg berat badan)
Streptococcus faecum AD1050	> 6,6
Streptococcus equinus	> 6,39
Lactobacillus fermentum AD002	> 6,62
Lactobacillus salivarius AD000	> 6,47
Lactobacillus GG (ATCC S3103)	> 6,00
Lactobacillus helveticus	> 6,00
Lactobacillus bulgaricus	> 6,00
Bifidobacterium longum	2,5

Sumber : Donohue *et al.*,1993

Uji klinis

Berbagai data telah terkumpul dari uji klinis pada hewan percobaan atau dalam pasien voluntir manusia, yang membuktikan keamanan bakteri asam laktat. Semua data yang dikumpulkan, dilaporkan tidak ada pengaruh yang membahayakan dalam memanfaatkan *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria*. Sebaliknya pemberian probiotik tersebut menghasilkan efek positif terhadap infeksi usus, yaitu stabilisasi barier mukosa lumen usus, pencegahan diare dan bagi bayi lebih tahan atau lebih bertoleransi terhadap diare yang ada kaitannya dengan antibiotika (Winarno, 1997).

BAB III

MATERI DAN METODE

III.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya tanggal 26 Februari 1998 sampai 19 Maret 1998.

III.2. Materi Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : kandang, alat penelitian, anak ayam, isolat *Salmonella pullorum*, makanan, probiotik dan media uji bakteriologi.

III.2.1. Kandang

Kandang yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang litter yang berukuran panjang 2 m, lebar 0,5 m dan tinggi 75 cm terbuat dari kayu, kawat ram, kasa dan genteng plastik. Alas kandang dialasi dengan karung goni, sekam dan kertas koran. Tinggi alas kandang 30 cm dari permukaan tanah. Tempat air minum dari plastik dengan kapasitas satu liter sebanyak empat buah dan tempat makan dari plastik sebanyak empat buah. Sebagai penghangat digunakan lampu berdaya 10 watt sebanyak empat buah.

Kandang litter ini dibagi menjadi empat petak , masing-masing berukuran panjang 0,5 m, lebar 0,5 m dan tinggi 75 cm. Pada tiap petak diletakkan tempat makan dan minum masing-masing satu buah.

Dua hari sebelum anak ayam dimasukkan kandang, dilakukan fumigasi dengan menggunakan fumisid dengan tujuan untuk menyucihamakan kandang dan peralatan kandang.

III.2.2. Alat Penelitian

Alat-alat lain yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat bedah (skalpel, gunting, pinset), kapas, pot obat, api bunzen, tabung reaksi, pipet, termos es, alat suntik dengan ujung membulat, spatula, jarum pemupuk, inkubator, cawan petri. Semua alat yang digunakan dalam keadaan steril.

III.2.3. Anak Ayam

Anak ayam yang digunakan dalam penelitian ini adalah anak ayam tipe petelur jantan ras CP 907 umur 1 hari (DOC) yang diperoleh dari PT. Charoen Pokphand Jaya Farm sebanyak 24 ekor. Dari 24 ekor anak ayam tersebut, diambil enam ekor secara acak sebagai kelompok perlakuan P_0 dan seterusnya sampai kelompok perlakuan P_3 . Masing-masing kelompok dimasukkan dalam petak tersendiri.

III.2.4. Isolat *Salmonella pullorum*

Isolat *Salmonella pullorum* diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dalam bentuk koloni dalam media *Salmonella Shigella Agar (SSA)*.

III.2.5. Makanan

Makanan yang diberikan selama masa penelitian adalah 521 produksi PT. Charoen Pokphand Jaya Farm dalam bentuk *mash*. Makanan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Air minum yang digunakan adalah air PDAM.

III.2.6. Probiotik

Probiotik yang digunakan adalah Acid Pak 4 Way (AP 4 W) produksi Romindo Primavetcom berupa serbuk putih yang mengandung *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus faecium*.

III.2.7. Media Uji Bakteriologi

Media isolasi yang digunakan untuk pertumbuhan *Salmonella pullorum* pada penelitian ini adalah media selektif *Salmonella Shigella Agar (SSA)*. Media identifikasi menggunakan *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*, *Sulfide Indol Motility (SIM)*, Citrat, Urease dan Gula-gula.

III.3. Metode Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian probiotik terhadap patologi anatomi dan uji bakteriologi caecum anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum*, maka dilakukan langkah-langkah penelitian sebagai berikut :

III.3.1. Pembuktian Isolat *Salmonella pullorum*

Bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri *Salmonella pullorum* yang akan digunakan masih dalam bentuk murni atau tidak dan masih menunjukkan ciri sebagai *Salmonella pullorum*.

Cara :

Mengambil satu koloni *Salmonella pullorum* dengan ose steril, kemudian dilakukan streak (penggoresan) pada media SSA dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Media yang telah ditanami akan tumbuh koloni bulat dan transparan (tembus pandang).

Koloni tersebut digunakan untuk pengujian biokimiawi yang terdiri dari uji TSIA, SIM, Urease, Citrat dan Gula-gula. Pengujian dengan hasil positif *Salmonella pullorum* digunakan untuk pembuatan suspensi *Salmonella pullorum*.

- Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Pemupukan pada media TSIA dilakukan dengan mengambil bakteri dari biakan murni dengan menggunakan ose steril, lalu dipupuk dengan cara tusukan pada bagian dasar tabung agar dan goresan pada bagian agar yang miring kemudian media diinkubasi pada temperatur 37⁰ C selama 24 jam.

Pemupukan pada media TSIA bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasikan glukosa, laktosa, sukrosa dan juga mengetahui apakah bakteri membentuk H_2S dan gas (Jang *et al.*, 1976).

– *Sulfide Indol Motility (SIM)*

Cara pemupukan pada media SIM ini dengan mengambil koloni dari kultur murni kemudian ditusukkan sampai dengan setengah bagian pada media, lalu diinkubasi pada temperatur 37^0 C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan menambahkan kloroform dan reagen kovach sama banyak.. Hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya cincin indol yang berwarna merah.

– *Citrat Agar*

Cara pemupukan pada media ini dengan melakukan penggoresan pada permukaan media kemudian diinkubasi pada temperatur 37^0 C selama 24 jam. Tujuannya untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan unsur karbon dari citrat. Hasil positif bila media menunjukkan perubahan warna dari hijau menjadi biru.

– *Urea Agar*

Kultur murni bakteri diambil dengan ose steril untuk digoreskan pada permukaan miring media urea agar kemudian diinkubasi pada temperatur 37^0 C selama 24 jam. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri dapat menghidrolisa urea menjadi amoniak. Bakteri-bakteri yang dapat menghidrolisa urea akan memberikan warna media menjadi merah.

– Uji Gula-gula

Cara pemupukan media ini dengan mengambil bakteri dengan ose steril kemudian dicelupkan dalam media kemudian diinkubasi pada temperatur 37⁰ C selama 24 jam. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri dapat memfermentasi gula-gula atau tidak.

III.3.2 . Pembuatan Suspensi Bakteri

Sebelum bakteri diinfeksikan terlebih dahulu bakteri disuspensikan dengan menggunakan metode Koch.

Cara:

Bakteri yang telah terbukti *Salmonella pullorum* diambil empat koloni lalu dibiakkan pada media SSA. Hal ini dilakukan pada tiga media SSA. Setelah diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37⁰ C, setiap media dituangi dengan tiga mililiter NaCl fisiologis. Media digoyang-goyang agar koloni bakteri larut dalam NaCl fisiologis. Koloni yang larut ditampung pada satu tabung reaksi dan didapatkan sembilan mililiter suspensi bakteri (Biester dan Schwartz, 1965).

Suspensi Bakteri

Delapan tabung reaksi yang ditandai dengan angka satu sampai dengan delapan disediakan untuk pengenceran. Tabung pertama berisi suspensi bakteri dari ketiga media SSA. Tabung kedua sampai tabung kedelapan berisi sembilan mililiter NaCl fisiologis. Tabung pertama diambil satu mililiter suspensi bakteri dan dimasukkan ke dalam tabung ke-2 yang berisi sembilan mililiter NaCl fisiologis, kemudian dari tabung ke-2 diambil satu mililiter larutan bakteri dan dimasukkan ke

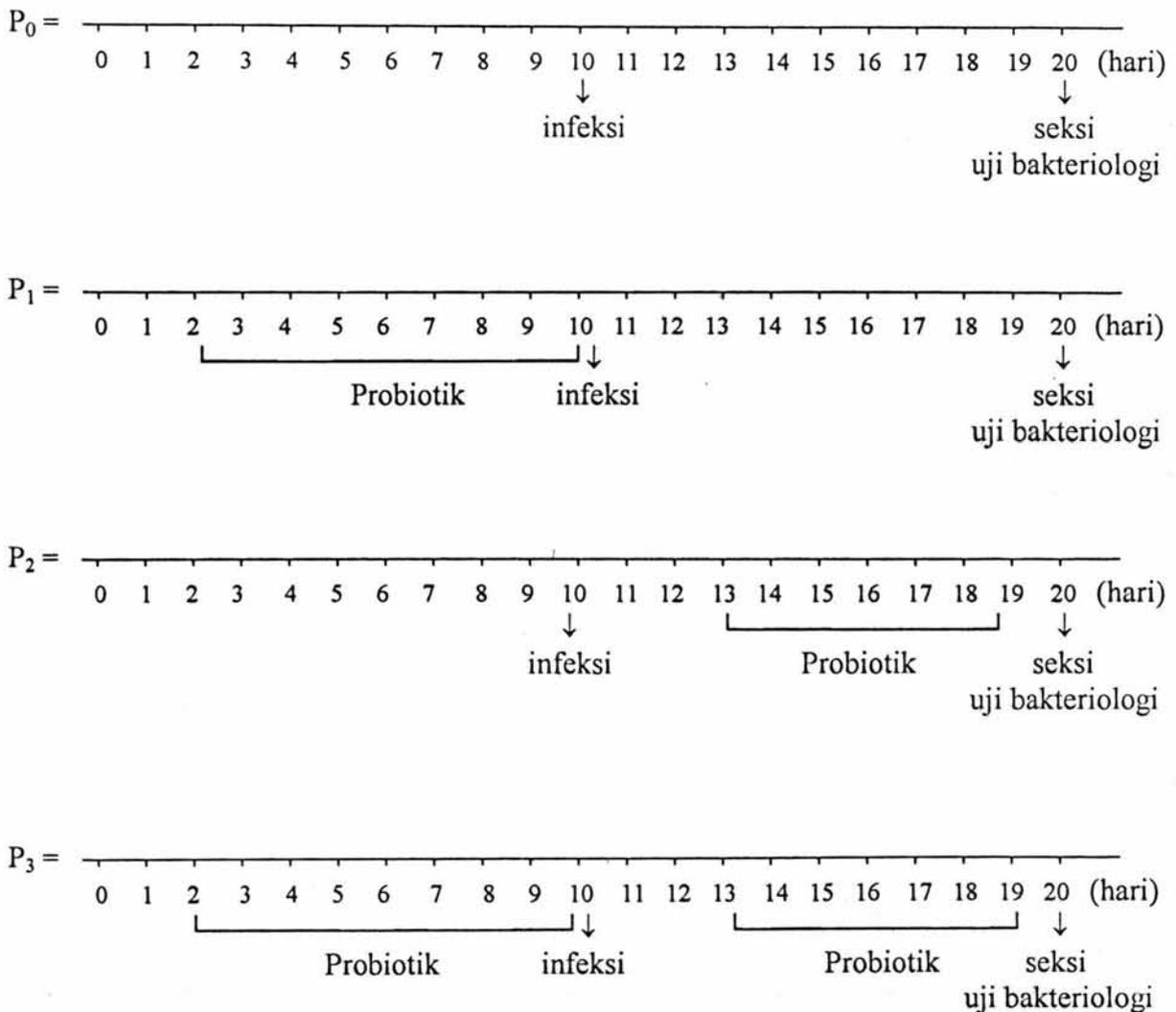
dalam tabung ke-3 yang berisi sembilan mililiter NaCl fisiologis, demikian seterusnya hingga tabung ke-8 sehingga didapatkan seri pengenceran. Tabung pertama adalah pengenceran 10^0 (tanpa pengenceran) sedangkan tabung ke-2 sampai tabung ke-8 merupakan pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-7} .

Jumlah yang diinfeksi pada penelitian ini adalah dosis 10 ID_{50} sebanyak satu mililiter pada pengenceran 10^{-2} yang mengandung $28,9 \times 10^{4,5}$ bakteri per mililiter (Ay Ling, 1998).

III.3.3. Perlakuan Penelitian

- P_0 = anak ayam diinfeksi bakteri *Salmonella pullorum* secara oral pada umur 10 hari tanpa diberi probiotik (sebagai kontrol sakit).
- P_1 = anak ayam diberi probiotik dalam air minum dengan dosis satu gram per liter air minum, mulai umur 2 hari sampai umur 10 hari (delapan hari berturut-turut). Pada umur 10 hari diinfeksi bakteri *Salmonella pullorum* secara oral.
- P_2 = anak ayam diinfeksi bakteri *Salmonella pullorum* secara oral pada umur 10 hari. Pada umur 13 hari diberi probiotik dalam air minum dengan dosis satu gram per liter air minum selama tujuh hari berturut-turut.
- P_3 = anak ayam diberi probiotik dalam air minum dengan dosis satu gram per liter air minum, mulai umur 2 hari sampai 9 hari (delapan hari berturut-turut). Pada umur 10 hari diinfeksi bakteri *Salmonella pullorum* secara oral. Pada umur 13 hari anak ayam tersebut diberi probiotik dalam air minum dengan dosis satu gram per liter air minum, selama tujuh hari berturut-turut.

Pada hari ke-20, semua anak ayam dibunuh dan dibuka untuk melihat patologi anatomi caecum. Setelah diamati, caecum beserta isinya diambil untuk pemeriksaan secara bakteriologis (isolasi identifikasi).



Gambar 1. Skema Perlakuan yang Diberikan pada Anak Ayam.

III.3.4. Tehnik Bedah Bangkai

1. Setelah anak ayam mati atau dibunuh, maka bangkai anak ayam disiram dengan air agar bulu tidak mengganggu pemeriksaan.
2. Bangkai anak ayam diletakkan di atas meja bedah dengan posisi punggung di atas meja, kemudian bulu dicabut pada bagian yang akan diiris.
3. Kulit antara kaki dan tubuh diiris, kemudian kaki dikuakkan ke samping sehingga bangkai dapat terentang dengan baik.
4. Kulit dilepas mulai dari pertengahan perut dengan mengiris melintang kemudian dilanjutkan ke muka sehingga seluruh kulit yang menutupi perut dan dada dapat terlepas.
5. Dinding perut bagian belakang digunting secara melintang, dilanjutkan ke depan dengan memotong kostae dan klavikula. Pembukaan ini diteruskan ke belakang sehingga organ-organ dalam rongga dada dan perut dapat terlihat dengan jelas.
6. Dilakukan pengamatan terhadap patologi anatomi dari caecum.

III.3.5. Uji Bakteriologi

Uji bakteriologi yang dilakukan pada penelitian ini adalah isolasi dan identifikasi. Untuk bahan isolasi, digunakan caecum beserta isinya. Caecum beserta isinya dimasukkan dalam tetrationsat setelah sebelumnya dihaluskan, kemudian diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37⁰ C. Setelah diinkubasi, dengan menggunakan ose steril ditanam pada media SSA dan diinkubasi selama 24 jam dalam temperatur 37⁰ C. Koloni yang tumbuh pada media SSA diidentifikasi dengan menggunakan media TSIA, SIM , Citrat , Urease dan Gula-gula.

III.4. Rancangan Penelitian

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

III.5. Perubah Yang Diamati

Perubah yang diamati pada penelitian ini adalah patologi anatomi dan hasil uji bakteriologi caecum (ada tidaknya *Salmonella pullorum*).

III.6. Analisa Data

Skor data yang diperoleh dari pengamatan patologi anatomi caecum akan dianalisa dengan Uji Kruskal Wallis. Apabila diperoleh hasil yang berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan Uji Z untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda. Sedangkan untuk hasil uji bakteriologi dinyatakan dalam tanda positif dan negatif tanpa dilakukan analisis data secara statistik.

Adapun untuk penilaian patologi anatomi caecum digunakan kriteria sebagai berikut:

Nilai	Kriteria	Kerusakan
1	Negatif	Tidak terjadi kerusakan.
2	Ringan	Keradangan pada salah satu caecum.
3	Sedang	Keradangan pada kedua caecum dan ditemukan adanya foki nekrotis.
4	Berat	Caecum berisi bentukan seperti keju yang kadang-kadang bercampur darah.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Setelah bangkai anak ayam dibuka, maka dilakukan pengamatan terhadap patologi anatomi caecum. Dari pengamatan pada semua anak ayam dari kelompok perlakuan P_0 , P_1 , P_2 dan P_3 didapat hasil sebagai berikut :

Perlakuan P_0 :

Pada pemeriksaan pasca mati, tampak perubahan-perubahan abnormal pada caecum semua anak ayam. Perubahan-perubahan yang tampak antara lain, caecum anak ayam mengalami radang, terdapat foki nekrotis yang meluas hingga kedua organ caecum dan terdapat bentukan seperti keju yang kadang-kadang bercampur darah.

Perlakuan P_1 :

Pada pemeriksaan pasca mati, tidak tampak adanya perubahan-perubahan abnormal pada caecum semua anak ayam.

Perlakuan P_2 :

Pada pemeriksaan pasca mati, hanya tampak adanya perubahan-perubahan abnormal pada caecum anak ayam nomor lima. Perubahan-perubahan yang tampak adalah caecum mengalami radang tanpa ditemukan adanya foki nekrotis maupun bentukan seperti keju yang kadang-kadang bercampur darah pada caecum anak ayam nomor lima. Sedangkan pada caecum anak ayam yang lain tidak ditemukan adanya perubahan-perubahan abnormal.

Perlakuan P₃ :

Pada pemeriksaan pasca mati, tidak tampak adanya perubahan-perubahan abnormal pada caecum semua anak ayam.

Hasil skor patologi anatomi caecum yang dianalisa Uji Kruskal Wallis menyatakan adanya perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) di antara perlakuan.

Untuk menentukan perlakuan mana yang berbeda, dilanjutkan dengan Uji Z.

Hasil yang diperoleh dari Uji Z memperlihatkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antara perlakuan P₀ (kontrol sakit) dengan perlakuan P₁, P₂ dan P₃. Sedangkan perlakuan P₁ tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan perlakuan P₂ dan P₃. Perlakuan P₂ tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan perlakuan P₃ (tabel 2).

Tabel 2. Hasil Analisa Statistik dan Simpangan Baku Skor Patologi Anatomi Caecum Setiap Perlakuan hari Kesepuluh Pasca Infeksi.

	Perlakuan			
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
Patologi anatomi caecum	21,5 ^a	9 ^b	10 ^b	9 ^b
Simpangan baku	1,22	0	3,67	0

Superscrip a, b, c dan d yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Keterangan :

P₀ = Kontrol sakit

P₁ = Probiotik diberikan sebelum anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum*

P₂ = Probiotik diberikan setelah anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum*

P₃ = Probiotik diberikan sebelum dan setelah anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum*

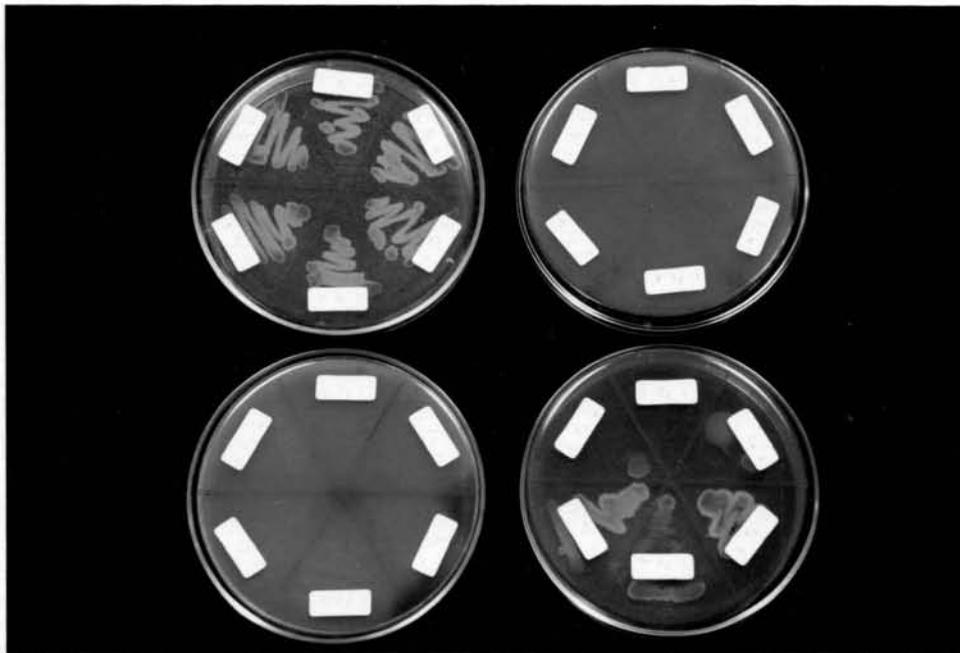
Hasil uji bakteriologi *Salmonella pullorum* dari caecum anak ayam dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Bakteriologi Setiap Caecum Anak Ayam pada hari Kesepuluh Pasca Infeksi.

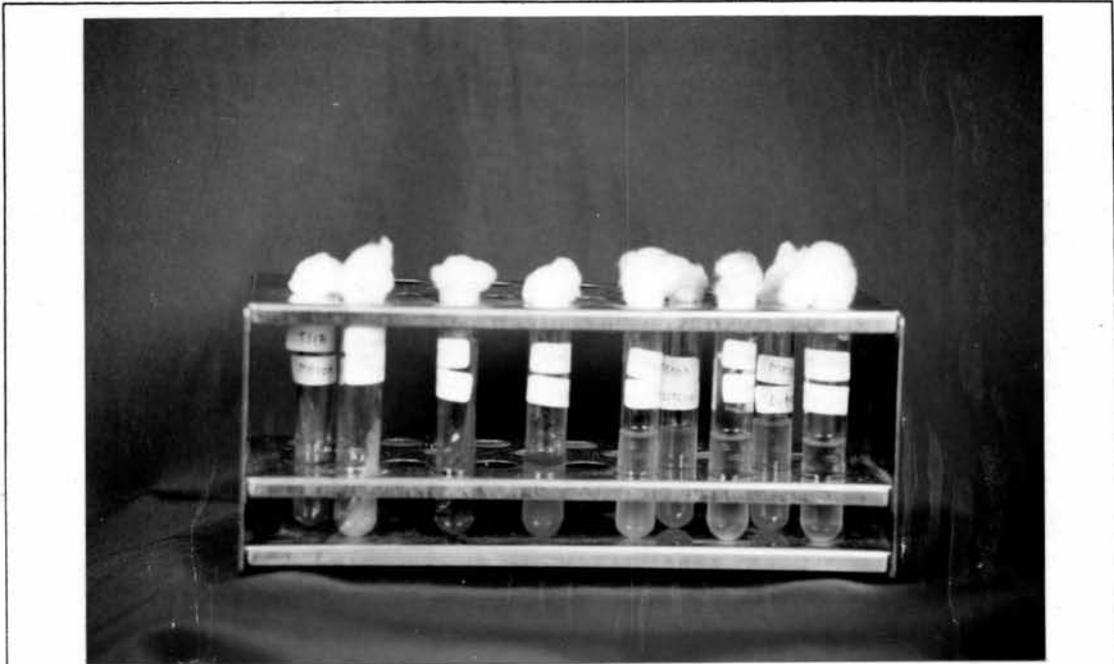
Ulangan	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
1	+	-	-	-
2	+*	-	-	-
3	+	-	+	-
4	+	-	-	-
5	+	-	+	-
6	+	-	-	-

Keterangan :

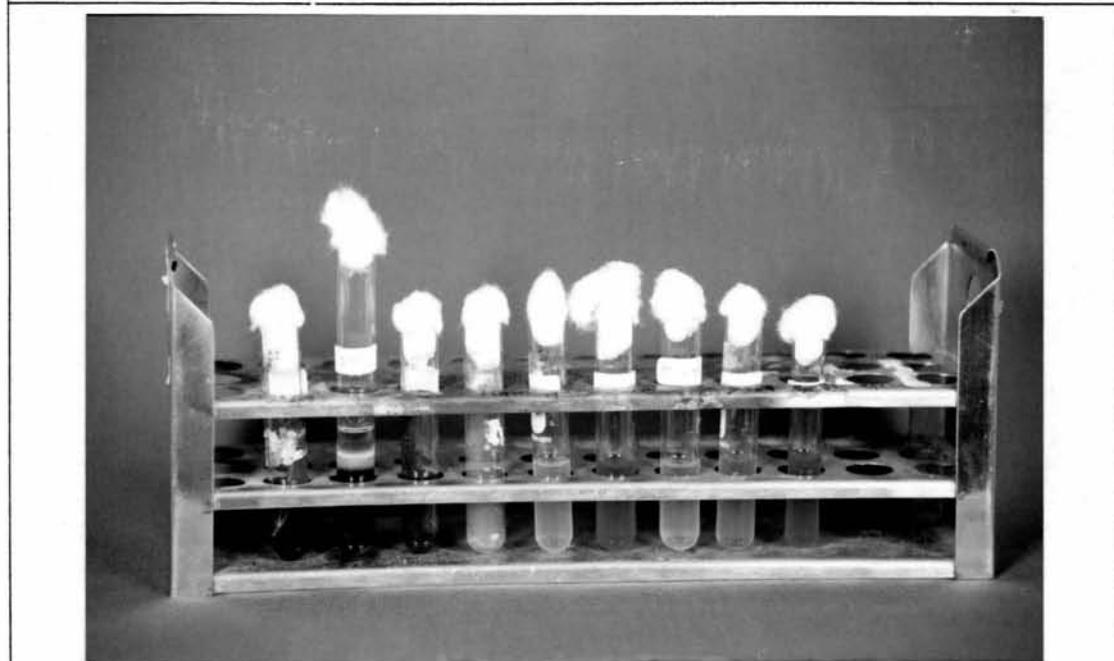
- + = hasil uji bakteriologi menunjukkan adanya bakteri *Salmonella pullorum* pada caecum anak ayam.
- = hasil uji bakteriologi menunjukkan tidak adanya bakteri *Salmonella pullorum* pada caecum anak ayam.
- * = anak ayam mati hari keempat pasca infeksi.
- P₀ = Kontrol sakit
- P₁ = Probiotik diberikan sebelum anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum*
- P₂ = Probiotik diberikan setelah anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum*
- P₃ = Probiotik diberikan sebelum dan setelah anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum*



Gambar 2. Hasil Isolasi dari Setiap Caecum Keempat Perlakuan (searah jarum jam)



Gambar 3. Hasil Identifikasi Koloni yang Berwarna Merah pada *Salmonella Shigella Agar*



Gambar 4. Hasil Identifikasi Koloni yang Jernih pada *Salmonella Shigella Agar*

BAB V

PEMBAHASAN

Hasil analisa statistik terhadap skor perubahan patologi anatomi caecum dengan menggunakan Uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) di antara perlakuan. Setelah dilanjutkan dengan Uji Z, diketahui adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antara perlakuan P_0 dengan perlakuan P_1 , P_2 dan P_3 . Sedangkan perlakuan P_1 tidak mempunyai perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dengan perlakuan P_2 dan P_3 . Demikian pula antara perlakuan P_2 dan P_3 tidak ada perbedaan yang nyata ($p > 0,05$).

Adanya perbedaan yang sangat nyata di antara perlakuan disebabkan oleh perlakuan yang diberikan pada kelompok penelitian ini, yaitu pemberian probiotik yang diberikan sebelum, setelah infeksi serta sebelum dan setelah infeksi pada anak ayam yang diinfeksi bakteri *Salmonella pullorum*.

Pada perlakuan P_0 , dimana anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum* tanpa menerima probiotik sama sekali menunjukkan adanya perubahan yang abnormal pada caecum keenam anak ayam. Perubahan abnormal yang ditemukan antara lain adanya hemoragis, foki nekrotis dan bentukan seperti keju yang kadang-kadang bercampur darah. Perubahan-perubahan abnormal ini erat kaitannya dengan patogenesis *Salmonella pullorum* yang dibagi menjadi tiga stadium, yaitu : kolonisasi, yang merupakan patogenesis bakteri tahap pertama. Bakteri *Salmonella pullorum* berkolonisasi pada bagian distal usus halus dan usus besar. Bakteri yang terdapat pada lapisan mukosa masuk ke epitel usus besar. Masuknya bakteri

(invasi) pada epitel merupakan patogenesis bakteri tahap kedua. Setelah bakteri *Salmonella pullorum* menembus epitel dan masuk ke dalam sel, bakteri kemudian memperbanyak diri dan menginfeksi sel lain yang terdekat atau masuk ke lamina propria, di sini berkembang biak kemudian difagositosis dengan dibawa ke limfonoduli regional. Tahap ketiga dari patogenesis bakteri *Salmonella pullorum* adalah rangsangan pengeluaran cairan yang berasal dari aktivitas adenilat siklase. Aktivasi adenilat siklase menyebabkan peradangan saluran cerna (Anonimus, 1992; Harrison dan Harrison, 1986).

Radang pada usus akibat *Salmonella pullorum* dapat bersifat hemoragis sehingga usus tampak kemerah-merahan (Ressang, 1984). *Salmonella pullorum* mengeluarkan toksin yang mematikan sel sehingga lambat laun terjadi kerusakan jaringan atau nekrosis. Proses peradangan yang berlanjut akan menghasilkan nanah atau pus yang lambat laun berubah menjadi bentukan mengeras seperti keju.

Adanya bakteri *Salmonella pullorum* pada caecum dibuktikan dengan hasil positif pada hasil uji bakteriologi semua anak ayam pada kelompok perlakuan P₀.

Pada perlakuan P₁, dimana anak ayam diberi probiotik selama delapan hari berturut-turut sebelum bakteri *Salmonella pullorum* diinfeksi menunjukkan tidak adanya perubahan yang abnormal pada caecum semua anak ayam, hasil uji bakteriologi juga menunjukkan hasil negatif untuk keenam anak ayam. Berarti anak ayam yang menerima probiotik sebelum diinfeksi *Salmonella pullorum* mempunyai ketahanan tubuh yang tinggi terhadap infeksi. Ray (1996) menyatakan bahwa efek menguntungkan dari mengkonsumsi probiotik adalah kemampuan probiotik melawan bakteri usus yang patogen, menstimulasi sistem pertahanan saluran

pencernaan dan aktivitas peristaltik usus, menghasilkan komponen antibakterial (asam, bakteriosin dan lain-lain) yang aktif melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Mengonsumsi probiotik setiap hari dapat membantu proses pencernaan secara maksimal dan melindungi membran mukosa saluran pencernaan². Tambuwun (1995), menyatakan bahwa probiotik yang terdapat dalam saluran pencernaan menghambat perkembangan bakteri patogen dengan mencegah kolonisasinya ke dinding saluran pencernaan.

Anak ayam pada perlakuan P₁ yang menerima probiotik sebelum diinfeksi, mempunyai keseimbangan mikroflora yang baik dalam saluran pencernaannya. Anonimus (1995) menyatakan bahwa keberadaan bakteri patogen dapat dihambat oleh keseimbangan mikroflora usus yang cenderung menekan perkembangan bakteri-bakteri patogen. Adanya keseimbangan mikroflora usus, menyebabkan bakteri *Salmonella pullorum* yang diinfeksi pada anak ayam tersebut tidak dapat berkolonisasi. Setelah kolonisasi dihanibat, bakteri dieliminasi keluar dari saluran pencernaan dengan bantuan gerakan peristaltik, sehingga bakteri *Salmonella pullorum* hilang dari saluran pencernaan anak ayam. Hal ini sesuai dengan hasil uji bakteriologi yang menunjukkan hasil negatif untuk semua anak ayam kelompok perlakuan P₁.

Pada perlakuan P₂, dimana probiotik diberikan pada anak ayam setelah anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum* menunjukkan adanya perubahan yang abnormal pada caecum anak ayam nomor lima, sedangkan kelima anak ayam yang lain tidak

² Probiotik Power Pack Plus "Biological Tool for Promotion of Digestive Balance."
<http://www.shetland.fi/probioe.html>

ditemukan adanya perubahan yang abnormal pada caecumnya. Anak ayam yang diinfeksi bakteri *Salmonella pullorum*, mengalami ketidakseimbangan mikroflora dalam ususnya. Akibatnya bakteri *Salmonella pullorum* dapat berkolonisasi. Soeharsono (1997) menyatakan bahwa mekanisme kerja dari probiotik adalah mendesak bakteri non indogenous keluar dari ekosistem saluran pencernaan dan menggantikan lokasi bakteri patogen (translokasi) di dalam saluran pencernaan. Karena probiotik berasal dari bakteri indogenous, maka proses translokasi adalah alamiah dalam ekosistem usus. Adanya proses translokasi tersebut menyebabkan keseimbangan mikroflora usus menjadi normal dan keseimbangan tersebut akan menekan perkembangan bakteri *Salmonella pullorum*.

Bakteri *Salmonella pullorum* masih dapat ditekan perkembangannya oleh probiotik karena bakteri tersebut masih dalam tahap kolonisasi pada lapisan mukosa usus mengingat masa inkubasinya sekitar seminggu. Dihasilkannya komponen antibakterial (asam, bakteriosin dan lain-lain) yang aktif melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif menyebabkan perkembangan bakteri *Salmonella pullorum* menjadi terhambat.

Apabila bakteri *Salmonella pullorum* masuk ke saluran pencernaan anak ayam, maka aktivitas peristaltik menurun karena kepekaan anak ayam meningkat yang disebabkan oleh perkembangbiakan bakteri (Anonimus, 1992). Karena perkembangbiakan bakteri *Salmonella pullorum* ditekan, maka aktivitas peristaltik meningkat kembali. Hal ini sesuai dengan pendapat Ray (1996) yang menyatakan bahwa salah satu efek yang menguntungkan adalah kemampuan probiotik untuk meningkatkan aktivitas peristaltik usus. ✓

Setelah perkembangan bakteri *Salmonella pullorum* terhambat, maka bakteri *Salmonella pullorum* dieliminasi keluar saluran pencernaan anak ayam dengan bantuan gerakan peristaltik. Tetapi dari hasil pengamatan pasca mati, ditemukan adanya perubahan yang abnormal pada caecum anak ayam nomor lima berupa peradangan pada dinding caecum. Hal ini disebabkan karena masa inkubasi *Salmonella pullorum* berbeda pada setiap individu, sehingga sewaktu probiotik diberikan bakteri telah melakukan invasi ke dalam epitel caecum. Probiotik tidak dapat mencapai sel epitel saluran pencernaan, sehingga bakteri *Salmonella pullorum* tidak dapat dieliminasi keluar saluran pencernaan dan menimbulkan kerusakan pada caecum. Hal ini dibuktikan dengan hasil uji bakteriologi yang menunjukkan hasil positif.

Pada uji bakteriologi caecum anak ayam nomor tiga ditemukan adanya bakteri *Salmonella pullorum* pada caecumnya (hasil positif), tetapi pada pengamatan pasca mati tidak ditemukan adanya perubahan yang abnormal pada caecumnya. Hal ini disebabkan karena kemampuan probiotik menetralkan toksin yang dihasilkan bakteri patogen (Tambuwun, 1995). Sebagian dari bakteri tetap berada pada membran mukosa karena probiotik tidak mampu mengeliminasi semua bakteri *Salmonella pullorum*, tetapi tidak mampu menimbulkan kerusakan pada caecum karena toksin yang dikeluarkan dinetralkan oleh probiotik. Ketidakmampuan probiotik untuk mengeliminasi semua bakteri *Salmonella pullorum* disebabkan oleh perbedaan respon anak ayam terhadap pemberian probiotik. Perbedaan respon ternak terhadap pemberian probiotik salah satunya disebabkan oleh stres (Anonimus, 1995). Stres pada ternak disebabkan karena infeksi bakteri.

Pada pemeriksaan pasca mati terhadap kelompok perlakuan P₃, dimana probiotik diberikan sebelum dan setelah anak ayam diinfeksi (kombinasi) tidak ditemukan adanya perubahan yang abnormal pada caecum keenam anak ayam. Diberikannya probiotik sebelum anak ayam diinfeksi menyebabkan keseimbangan mikroflora usus dan meningkatnya ketahanan saluran pencernaan terhadap infeksi. Oleh karena itu bakteri *Salmonella pullorum* tidak dapat berkolonisasi pada dinding usus. Keadaan ini semakin ditunjang dengan pemberian probiotik setelah anak ayam diinfeksi. Probiotik yang diberikan setelah infeksi membantu mengeliminasi bakteri *Salmonella pullorum* keluar saluran pencernaan anak ayam dan memelihara keseimbangan mikroflora usus. Hal ini didukung dengan hasil uji bakteriologi terhadap caecum yang menunjukkan hasil negatif untuk semua anak ayam kelompok perlakuan P₃.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI. 1. Kesimpulan

Setelah melihat hasil penelitian dan hasil analisa statistik, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian probiotik pada anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum* secara oral baik yang diberikan sebelum, setelah maupun sebelum dan setelah anak ayam diinfeksi memberikan pengaruh yang positif yaitu : mencegah kerusakan caecum anak ayam yang ditimbulkan oleh *Salmonella pullorum*.
2. Probiotik yang diberikan pada anak ayam sebelum, setelah maupun sebelum dan setelah (kombinasi) anak ayam diinfeksi mampu mengeliminasi bakteri *Salmonella pullorum* keluar saluran pencernaan ayam.

VI. 2. Saran

Mengingat penyakit Pullorum sering menyerang anak ayam dan mengakibatkan kerugian yang besar pada peternak, maka dapat disarankan :

1. Untuk mencegah penyakit Pullorum pada anak ayam selain menjaga sanitasi lingkungan tetap baik, dapat diberikan probiotik selama delapan hari berturut-turut dengan dosis satu gram per liter air minum pada DOC (sesuai cara pakai produk probiotik).

2. Setelah dilaksanakan penelitian ini dimana digunakan jenis bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus faecium*, maka dapat dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan jenis bakteri probiotik lainnya.

Ringkasan

LELY DELIMA S. Pengaruh Pemberian Probiotik Terhadap Patologi Anatomi Caecum dan Uji Bakteriologi *Salmonella pullorum* pada Anak Ayam. (dibawah bimbingan Hj. SORINI SOEHARTOJO sebagai pembimbing pertama dan EKA PRAMYRTHA H. sebagai pembimbing kedua).

Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian probiotik terhadap patologi anatomi dan hasil uji bakteriologi caecum anak ayam yang diinfeksi *Salmonella pullorum*.

Penelitian ini menggunakan 24 ekor anak ayam petelur jantan ras CP 907 umur sehari yang diperoleh dari PT. Charoen Pokphand Jaya Farm. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan dan enam ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah perlakuan 0 (P₀) anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum* tanpa menerima probiotik (kontrol sakit); Perlakuan 1 (P₁) anak ayam menerima probiotik delapan hari berturut-turut sebelum diinfeksi *Salmonella pullorum*; Perlakuan 2 (P₂) anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum* lalu diberi probiotik selama tujuh hari berturut-turut tiga hari pasca infeksi; Perlakuan 3 (P₃) anak ayam diberi probiotik delapan hari berturut-turut, lalu diinfeksi kemudian diberi probiotik kembali selama tujuh hari berturut-turut tiga hari pasca infeksi. Infeksi dilakukan sekali pada saat anak ayam berumur 10 hari yang dilakukan per oral. Pengamatan caecum dan uji bakteriologi dilakukan pada hari kesepuluh pasca infeksi.

Hasil analisis statistik dengan Uji Kruskal-Wallis menunjukkan pengaruh positif terhadap patologi anatomi caecum, secara bermakna dibanding kontrol sakit (P_0). Sedang di antara P_1 , P_2 dan P_3 tidak memberikan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Hasil uji Bakteriologi memberikan hasil negatif untuk caecum semua anak ayam perlakuan P_1 dan P_3 . Pada perlakuan P_2 , terdapat hasil uji bakteriologi yang positif pada caecum anak ayam nomor 3 dan 5 dan hasil uji bakteriologi yang negatif pada caecum anak ayam yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1979. The Merck Veterinary Manual, A Hand Book of Diagnosis and Therapy for The Veterinarian. 5th Ed. Merck and Co.Inc. Rahway, N.J. USA. 496 - 497; 1533 - 1534.
- Anonimus, 1981. Pedoman Pengendalian Penyakit Hewan Menular. Jilid I, Cetakan Kedua. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian, Jakarta. 73 - 80.
- Anonimus, 1992. Ilmu Penyakit Bakterial. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. 19 - 25.
- Anonimus, 1995. Probiotik Pemanfaatannya dalam Pakan Ternak. Balitnak Bogor.
- Ay Ling, 1998. Penentuan LD₅₀ dan ID₅₀ *Salmonella pullorum* pada Anak Ayam Umur 10 hari. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Biester, M.S. and L.H. Schwartz, 1965. Disease of Poultry, 5th Ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. 220 - 254.
- 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 Broiler. Departement and The Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University Alabama. Poultry Sci. 69: 1670 - 1674.
- Brunner, H.E. and J.H. Giellespie, 1973. Hogan's Infectious Diseases of Domestic Animal. 6th Ed. Cornel University Press, London. 148 - 171.
- Donohue, D.C., *et al.*, 1993. Lactic acid Bacteria. In : Salmien and Wright, A (eds) Marrel Dekker, New Yorkmateri dokter
- Fiems, L.O., Cottyn, B.G., Boucque, Ch.V., 1991. Growth Promotors and Meat Yield. In : L.O. Fiems, B.G. Cottyn, O.I. Meyer. Animal Biotechnology and The Quality of Meat Production. Developments in Animal and Vet. Sci. 25 : 31 - 36.
- Frazier, W.C., Westhoff, D.C., 1988. Food Microbiology. 4th Ed. Mc Graw-Hill. Inc. USA. 45 - 51.

- Gordon, R.F. and F.T.W. Jordan, 1982. Poultry Disease. 2nd Ed. Builliese Randall, East Bourne, East Sussex. 9 - 15.
- Hagan, W.A. and D.W. Brunner, 1981. The Infectious Diseases of Domestic Animal with Special Reference to Etiology and Biologic Therapy. 3rd Ed. Camstock Publishing Associate, A. Division of Cornell University Press. Ithaca, New York. 90 - 93.
- Hammes, W.P., P.S. Tichaczek, 1994. The Potential of Lactic acid Bacteria for the Production of Wholesome Food. Z - Lebensm-Unters-Forsch. 198 (3) (Abrstr.): 193 - 201.
- Harrison, G.J., Harrison, L.R., 1986. Pathogenesis Salmonellosis. Clinical Avian Medicine and Surgery Including Aviculture. W.B. Saunders Company. Philadelphia, USA. 445 - 446.
- Hofstad, M.S., 1984. Diseases of Poultry. 8th Ed. Angus and Robertson. Sidney, Melbourne. 231 - 250.
- Hungerford, T.G., 1969. Disease of Poultry. 4th Ed. Angus and Robertson. Sidney, Melbourne. 231 - 250.
- Jackson, C.A.W. and G.C. Simmons, 1981. Standart Diagnostic Technique for Pullorum Diseases. 1st Ed. The Australian Bureun of Animal Health. Australia. 1 - 10.
- Jang, S.S., E.L. Biberstein and D.C. Hirsh, 1976. A Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Micology. The University of California Davis, USA. 30 - 32 ; 113 - 118.
- Kingscote, B., 1989. Veterinary Microbiology Intoduction to Bacteria and Virology. 7th Ed. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 285-3098.
- Kuspartoyo, 1991. Pullorum Penyakit Ganas pada Anak Ayam. Majalah Peternakan Indonesia. Nomor 73.
- Kusriningrum, 1990. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap, Universitas Airlangga. 53 - 92.
- Marshall, T.R., 1992. Standart Methods for the Examination of Dairy Products. 16th Ed. Washington D.C, USA. 277 - 279.
- Merchant, J.A. and R.A. Parker, 1971. Veterinary Bacteriology and Virology. 5th Ed. Iowa State Collage Press, Ames. 341 - 361.

- Owings, W.S., Reynolds, D.L., Hasiak, R.J., Ferket, P.R., 1990. Influence of Dietary Supplement with *Strep. faecium* M-74 on Broiler Body Weight, Feed Conversion, Carcass Characteristics and Intestinal Microbial Colonization. *Poultry Sci.* 69 : 1257.
- Rahayu, E.S., 1997. Bakteri Asam Laktat Sebagai Penghasil Agensia Antimikrobia. Seminar. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Ray, B., 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press. New York. 191-200.
- Ressang, A.A., 1984. Patologi Khusus Veteriner. N.V. Denpasar. 591 - 593.
- Rumawas, W., 1976. Patologi Penyakit Unggas. Kursus Pengamatan Penyakit Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta. 11 - 18 ; 169 - 170.
- Sarmanu, 1994. Diktat Uji Komparasi pada Statistika Non-Parametrik. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. 9 - 12.
- Seneviratna, P., 1969. *Diseases of Poultry*. 2nd Ed. John Wright and Sons Ltd, Bristol. 47 - 51.
- Soeharsono, H., 1997. Probiotik Alternatif Pengganti Antibiotika. *Buletin PPSKI*. Nomor 9. 3 - 5.
- Sri Purnomo, 1972. Laporan Pra Survey Pemeriksaan Pullorum di Daerah. *Buletin LPPH*. 3 : 3 - 4.
- Tambuwun, B., 1995. Produk Probiotik sebagai Feed Supplement dalam Pakan Ternak. *Majalah Ruminansia*. No. 4. 31 - 32.
- Winarno, F.G., 1997. Probiotik dan Keamanan Pangan. Seminar. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1.

Hasil Pengamatan Skor Patologi Anatomi Caecum Seluruh Anak Ayam hari kesepuluh Pasca Infeksi.

Ulangan	Perlakuan			
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
1	4	1	1	1
2	4 *	1	1	1
3	4	1	1	1
4	3	1	1	1
5	4	1	2	1
6	4	1	1	1

Keterangan :

P₀ = perlakuan 0 (kontrol sakit)

P₁ = probiotik diberikan sebelum anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum*

P₂ = probiotik diberikan setelah anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum*

P₃ = probiotik diberikan sebelum dan setelah anak ayam diinfeksi *Salmonella pullorum*

* = anak ayam mati hari keempat pasca infeksi

Lampiran 2.

Analisis Statistika Skor Patologi Anatomi Caecum Empat Kelompok Anak Ayam Percobaan.

Ulangan	P ₀		P ₁		P ₂		P ₃	
	Skor	Rank	Skor	Rank	Skor	Rank	Skor	Rank
1	4	22	1	9	1	9	1	9
2	4	22	1	9	1	9	1	9
3	4	22	1	9	1	9	1	9
4	3	19	1	9	1	9	1	9
5	4	22	1	9	2	18	1	9
6	4	22	1	9	1	9	1	9
Total		T ₀ =129		T ₁ =54		T ₂ = 63		T ₃ = 54
Rata-rata		$\bar{T}_0=21,5$		$\bar{T}_1=9$		$\bar{T}_2=10,5$		$\bar{T}_3= 9$

Keterangan :

T = total ranking

 \bar{T} = rata-rata ranking

Penilaian peringkat (rank) diperoleh dengan menjumlah secara urut nilai skor terkecil lalu dibagi dengan jumlah nilai skor tersebut.

$$\text{Skor 1} = \frac{1 + 2 + 3 + 4 + 5 + \dots + 17}{17} = 9$$

$$2 = \frac{18}{1}$$

$$3 = \frac{19}{1}$$

$$4 = \frac{20 + 21 + 22 + 23 + 24}{5} = 22$$

Uji Kruskal Wallis

Rumus :

$$H_{hitung} = \frac{12}{n(n+1)} \sum \frac{T_k^2}{n_k} - 3(n+1) \quad (\text{Sarmanu, 1994})$$

$$n = n_1 + n_2 + n_3 + \dots + n_k$$

 H_0 = tidak ada perbedaan diantara perlakuan H_1 = ada perbedaan diantara perlakuan

$$\begin{aligned} H_{hitung} &= \frac{12}{24(24+1)} \left(\frac{129^2 + 54^2 + 63^2 + 54^2}{6} \right) - 3(24+1) \\ &= \frac{12}{600} \left(\frac{16641 + 2916 + 3969 + 2916}{6} \right) - 3(25) \\ &= 0,02(4407 - 75) \\ &= 13,14 \end{aligned}$$

Karena dalam data terdapat angka kembar, maka digunakan rumus

 H_{hitung} terkoreksi .

Rumus :

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

$$T = t^3 - t$$

t = jumlah angka kembar

$$T_1 = 17^3 - 17 = 4896$$

$$\frac{T_4 = 5^3 - 5 = 120}{5016} +$$

$$\begin{aligned}
 H_{\text{hitung terkoreksi}} &= \frac{13,14}{1 - \frac{5016}{(24^3 - 24)}} \\
 &= \frac{13,14}{1 - 0,3635} \\
 &= 20,644
 \end{aligned}$$

Karena banyaknya perlakuan lebih dari 3, maka $H_{\text{hitung terkoreksi}}$ dibandingkan dengan $X^2 \alpha (k - 1)$.

$$X^2 (0,05)(3) = 7,815$$

$$X^2 (0,01)(3) = 11,345$$

Karena $H_{\text{hitung terkoreksi}} > X^2 (0,01)(3)$, maka hipotesa nol (H_0) ditolak. Jadi ada perbedaan yang sangat nyata diantara perlakuan. Untuk mengetahui perbedaan patologi anatomi caecum antara perlakuan 0 (kontrol) dengan P_1 , P_2 dan P_3 digunakan uji Z.

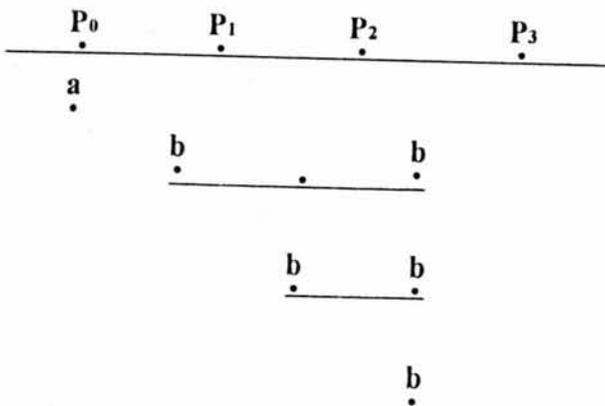
$$|\bar{T}_i - \bar{T}_j| > Z_{\alpha/k(k-1)} \sqrt{\frac{n(n+1)}{12} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)} \quad (\text{Sarmanu, 1994})$$

k = jumlah perlakuan

$$\begin{aligned}
 Z_{0,05/4(3)} = Z_{0,00417} &= 2,64 \sqrt{\frac{24(25)}{12} \left(\frac{1}{6} + \frac{1}{6} \right)} \\
 &= 2,64 \sqrt{\frac{600}{12} \left(\frac{2}{6} \right)} \\
 &= 2,64 \cdot 4,08 \\
 &= 10,777
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 |\bar{T}_0 - \bar{T}_2| &= |21,5 - 10,5| = 11 > 10,777 \text{ , berbeda nyata} \\
 |\bar{T}_0 - \bar{T}_3| &= |21,5 - 9| = 12,5 > 10,777 \text{ , berbeda nyata} \\
 |\bar{T}_1 - \bar{T}_2| &= |9 - 10,5| = 1,5 < 10,777 \text{ , tidak berbeda nyata} \\
 |\bar{T}_1 - \bar{T}_3| &= |9 - 9| = 0 < 10,777 \text{ , tidak berbeda nyata} \\
 |\bar{T}_1 - \bar{T}_3| &= |10,5 - 9| = 1,5 < 10,777 \text{ , tidak berbeda nyata}
 \end{aligned}$$

Notasi :



Lampiran 3.

Komposisi Acid Pak 4 Way

Organic acidifiers (bahan pengasam)	= Asam sitrat dan asam sorbat
Elektrolit	= Na, K, Fe, Mg, Zn, S, Cl
Enzim	= protease, amilase, selulase
Bakteri asam laktat	= <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Streptococcus faecium</i>

Setiap kilogram Acid Pak 4 Way , mengandung :

- Sodium minimal 1,5% maksimal 2,5%
- Potasium minimal 1,3%
- Enzim amilase 440.000 unit/gram
- Enzim protease 330.000 unit/gram
- *Lactobacillus acidophilus* (NCL 84) minimal 100.000.000 CFU/gram
- *Streptococcus faecium* (NCS 97) minimal 100.000.000 CFU/gram

Lampiran 4.

Tabel Nilai X^2

d.f	α .05	α .025	α .01	α .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	15.086	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	24.996	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 5.

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	0.4960	0.4920	0.4880	0.4840	0.4801	0.4761	0.4721	0.4681	0.4641
0.1	0.4602	0.4562	0.4522	0.4483	0.4443	0.4404	0.4364	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	0.3446	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	0.2946	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	0.2358	0.2327	0.2296	0.2266	0.2236	0.2206	0.2177	0.2148
0.8	0.2118	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	0.1056	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	0.0606	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	0.0098	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									