

**SKRIPSI**

DAYA ANTIBAKTERIAL PROBIOTIK  
DAN OKSITETRASIKLIN TERHADAP *Salmonella pullorum*  
SECARA *IN VITRO*



OLEH :

*DWI KURNIATI NEGORO*

SURABAYA - JAWA TIMUR

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

**DAYA ANTIBAKTERIAL PROBIOTIK DAN OKSITETRASIKLIN  
TERHADAP *Salmonella pullorum*  
SECARA *IN VITRO***

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

**DWI KURNIATI NEGORO**

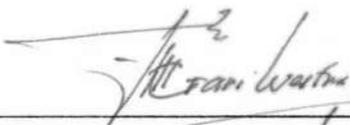
NIM 069311997

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing



Angela Mariana L., M.Si., Drh.

Pembimbing I

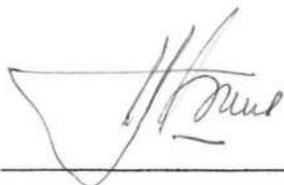


Paridjata W., M.Agr.Sc., Drh.

Pembimbing II

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



Soeharsono, M.Si., Drh

Ketua



Didik Handijatno, M.S., Drh.

Sekretaris



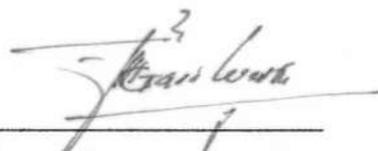
Anita Asali, M.S., Drh.

Anggota



Angela Mariana L., M.Si., Drh.

Anggota



Paridjata W., M.Agr.Sc., Drh.

Anggota

Surabaya, 28 September 1998  
Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,



DR. Ismudiono, M.S., Drh

NIP. 130687297

**DAYA ANTIBAKTERIAL PROBIOTIK DAN OKSITETRASIKLIN**

**TERHADAP *Salmonella pullorum***

**SECARA *IN VITRO***

**DWI KURNIATI NEGORO**

**ABSTRAK**

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui daya antibakterial Probiotik dan Oksitetrasiklin terhadap *Salmonella pullorum*.

Penelitian ini menggunakan uji kepekaan metode dilusi dengan dua perlakuan, masing-masing perlakuan menggunakan lima belas kali ulangan. Kedua perlakuan tersebut yaitu pemberian larutan Probiotik dan larutan Oksitetrasiklin yang masing-masing dibagi menjadi sepuluh konsentrasi berbeda yaitu 1,95 ppm; 3,90 ppm; 7,80 ppm; sampai konsentrasi 1000 ppm. Inokulat yang dipakai adalah *Salmonella pullorum* dan disesuaikan dengan standar Mc Farland 1.

Peubah yang diamati adalah konsentrasi terendah yang masih dapat membunuh kuman *Salmonella pullorum* atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC). Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisa probit.

Hasil penelitian menunjukkan Probiotik dan Oksitetrasiklin mempunyai daya antibakterial terhadap kuman *Salmonella pullorum* secara *in vitro* yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antara kedua perlakuan.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan penulisan makalah ini.

Rasa terima kasih penulis sampaikan dengan segala hormat kepada Bapak Dr. Ismudiono, M.S., drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Demikian pula penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Ibu Angela Mariana L., M.Si., drh. selaku pembimbing pertama dan Bapak Paridjata W., M.Agr.Sc., drh. selaku pembimbing kedua yang telah bersedia meluangkan waktu dan memberikan saran, bimbingan serta nasehat yang sangat berguna dalam penyusunan makalah ini.

Tak lupa pula penulis sampaikan terima kasih kepada Bapak Didik Handijatno, M.S., drh. selaku Kepala Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan fasilitas serta kesempatan yang telah diberikan untuk melaksanakan penelitian, Ibu Dr. Roostita Balia, M.A.pp.Sc., drh. yang ikut membantu dan memberikan sarana sehingga terselesaikannya makalah ini.

Dengan ketulusan hati penulis menghaturkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada Ayah, Ibu, Kakak, Adik, atas dorongan, dukungan dan do'a restu yang diberikan selama berlangsungnya penelitian ini. Tak lupa penulis

menyampaikan rasa terima kasih kepada teman-teman yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu atas peran dan bantuannya.

Akhirnya penulis sebagai manusia biasa menyadari bahwa makalah ini kurang dari sempurna. Kritik dan saran yang berguna untuk penyempurnaan makalah ini penulis terima dengan lapang dada. Semoga makalah ini bermanfaat dan dapat menambah wawasan serta informasi bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, September 1998

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	2
1.3. Landasan Teori.....	2
1.4. Tujuan Penelitian.....	3
1.5. Manfaat Penelitian.....	3
1.6. Hipotesa Penelitian.....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1. Tinjauan Penyakit Pullorum.....	4
2.1.1. Etiologi dan Morfologi.....	4
2.1.2. Penyebaran dan Cara Penularan Penyakit.....	4
2.1.3. Sifat Biokimiawi .....	5
2.1.4. Hewan Terserang.....	6
2.1.5. Kerugian .....	7
2.1.6. Gejala Klinis.....	7

2.1.7. Patologi Anatomi.....	8
2.1.8. Diagnosa Penyakit.....	9
2.1.9. Pengobatan dan Pengendalian.....	10
2.2. Tinjauan Probiotik.....	11
2.2.1. Sejarah dan Definisi.....	11
2.2.2. Pemilihan Jenis Bakteri.....	11
2.2.3. Kegunaan dan Keuntungan Probiotik.....	12
2.2.4. Mekanisme Kerja.....	13
2.2.5. Keamanan Probiotik.....	15
2.3. Tinjauan Oksitetrasiklin.....	15
2.3.1. Sejarah Oksitetrasiklin.....	15
2.3.2. Sifat Fisik dan Kimiawi.....	16
2.3.3. Kemampuan Antibakterial.....	17
2.3.4. Absorpsi, Distribusi, Metabolisme dan Ekskresi.....	17
2.3.5. Efek Samping Oksitetrasiklin.....	18
<b>BAB III. MATERI DAN METODE .....</b>	<b>19</b>
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2. Materi Penelitian.....	19
3.2.1. Bahan-Bahan Penelitian.....	19
3.2.2. Alat-Alat Penelitian.....	19
3.3. Metode Penelitian.....	20
3.3.1. Persiapan Penelitian.....	20
3.3.1.1. Isolasi dan Identifikasi	

<i>Salmonella pullorum</i> .....	20
3.3.1.2. Pembuatan Suspensi.....	20
3.3.1.3. Pembuatan Larutan Oksitetrasiklin.....	21
3.3.1.4. Pembuatan Larutan Probiotik.....	21
3.3.2. Pelaksanaan Penelitian.....	21
3.4. Peubah yang Diamati.....	22
3.5. Analisis Data.....	22
<b>BAB IV. HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>23</b>
<b>BAB V. PEMBAHASAN.....</b>	<b>25</b>
<b>BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>29</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>30</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>32</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>34</b>
<b>GAMBAR.....</b>	<b>43</b>

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Konsentrasi Minimal Daya Hambat Bakteri (MIC) Probiotik Dan Oksitetrasiklin Yang Mempunyai Daya Antibakterial Terhadap kuman <i>Salmonella pullorum</i> .....	34
2. Konsentrasi Bunuh Bakteri Minimal (MBC) Probiotik yang Mempunyai Daya Antibakterial Terhadap Kuman <i>Salmonella pullorum</i> dengan Jumlah Kuman $3 \times 10^8$ per ml .....	35
3. Konsentrasi Bunuh Bakteri Minimal (MBC) Oksitetrasiklin yang Mempunyai Daya Antibakterial Terhadap Kuman <i>Salmonella pullorum</i> dengan Jumlah Kuman $3 \times 10^8$ per ml .....	36
4. Hasil Pengamatan Pertumbuhan Kuman <i>Salmonella Pullorum</i> Setelah Perlakuan Probiotik dan Oksitetrasiklin .....	37
5. Analisis Probit.....	38
6. Uji Biokimia yang Digunakan pada Penelitian.....	39
7. Hasil Identifikasi Kuman <i>Salmonella pullorum</i> .....	41

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kimia Oksitetrasiklin .....	16
2. Hasil Analisis Probit Pada Bagian Yang Tidak Ditumbuhi Kuman <i>Salmonella pullorum</i> Dengan Beberapa Konsentrasi Yang Diulang Sebanyak Lima Belas Kali Setelah Perlakuan Probiotik Dan Oksitetrasiklin.....	24
3. <i>Minimal Inhibitory Concentration</i> (MIC) yang terbentuk Setelah Pemberian Probiotik Terhadap Kuman <i>Salmonella pullorum</i> yang Diinkubasi Selama 24 jam pada Suhu 37° C.....	43
4. <i>Minimal Inhibitory Concentration</i> (MIC) yang Terbentuk Setelah Pemberian Oksitetrasiklin Terhadap Kuman <i>Salmonella pullorum</i> yang Diinkubasi Selama 24 jam pada Suhu 37° C.....	43
5. <i>Minimal Bactericidal Concentration</i> (MBC) yang Terbentuk Setelah Pemberian Probiotik Terhadap Kuman <i>Salmonella pullorum</i> yang Diinkubasi Selama 24 jam pada Suhu 37° C.....	44
6. <i>Minimal Bactericidal Concentration</i> (MBC) yang Terbentuk Setelah Pemberian Oksitetrasiklin Terhadap Kuman <i>Salmonella pullorum</i> yang Diinkubasi Selama 24 jam pada Suhu 37° C.....	44

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang Masalah

Sifat dan akibat penyakit pullorum sangat meresahkan para peternak ayam, terutama peternakan pembibitan. Tindakan pengobatan dengan menggunakan antibiotika belum memberikan hasil yang memuaskan. Penggunaan Oksitetrasiklin meskipun lebih baik dibanding antibiotika lainnya, masih merupakan persoalan. Hal ini disebabkan residu yang ditimbulkan pada produk ayam (daging, telur). Kondisi tersebut mendorong untuk mencari jenis pengobatan lain yang mempunyai khasiat seperti Oksitetrasiklin tetapi tidak menimbulkan residu. (Setiabudy, 1987).

Saat ini banyak mikroorganisme yang bermanfaat untuk kesehatan manusia dan hewan bahkan tumbuh-tumbuhan dengan mekanisme kerja menghambat mikroorganisme patogen. Mikroorganisme tersebut dikelompokkan ke dalam Probiotik. Probiotik adalah salah satu jenis sediaan yang mempunyai fungsi sama dengan antibiotika tetapi mempunyai mekanisme kerja yang berbeda. (Soeharsono, 1997; Winarno, 1997). Kelebihan Probiotik adalah tidak menimbulkan residu. Sedangkan penelitian efektifitas daya antibakterial Probiotik dibandingkan Oksitetrasiklin belum diteliti.

## 1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut yaitu perbedaan mekanisme kerja antara Probiotik dan Oksitetrasiklin, apakah Probiotik mempunyai efek daya antibakterial dengan Oksitetrasiklin sehingga Probiotik dapat mengganti peran Oksitetrasiklin.

## 1.3. Landasan Teori

Penyakit Pullorum disebabkan *Salmonella pullorum* yaitu jenis kuman yang berbentuk batang langsing dengan ukuran panjang 1 - 2,5 mikron, lebar 0,3 - 0,5 mikron bersifat gram negatif, non motil, tidak berspora dan tidak berkapsul (Hagan dan Brunner, 1981).

Penyakit Pullorum disebut juga sebagai penyakit diare putih anak ayam atau *Bacillary White Diarrhe*, berak kapur atau penyakit tifus ayam (Ressang, 1984).

Oksitetrasiklin masih dianggap sebagai pilihan utama untuk pengobatan penyakit Pullorum oleh sebagian peternak. Oksitetrasiklin adalah jenis antibiotika berspektrum luas bersifat bakteristatik baik terhadap kuman gram positif maupun negatif dengan cara menghambat pertumbuhan kuman melalui sintesa protein sel mikroba. Oksitetrasiklin hanya menekan jumlah kematian tetapi tidak menghilangkan infeksi sama sekali bahkan dapat menyebabkan residu dalam jaringan dan mutasi mikroorganisme, sedangkan Probiotik yang merupakan mikroorganisme hidup non patogen dengan cara kerja menghambat

#### **1.4. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakterial Probiotik dan Oksitetrasiklin terhadap *Salmonella pullorum*.

#### **1.5. Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi baru kepada peternak tentang Probiotik sebagai antibiotika yang lain untuk pengobatan penyakit Pullorum disamping penggunaan antibiotika Oksitetrasiklin sebagai *drug of choice*.

#### **1.6. Hipotesis Penelitian**

Tidak terdapat perbedaan daya antibakterial Probiotik dan Oksitetrasiklin terhadap *Salmonella pullorum* secara *in vitro*.

**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

**2.1. Tinjauan Penyakit Pullorum**

**2.1.1. Etiologi dan Morfologi**

Penyakit Pullorum ditemukan pertama kali pada tahun 1899, penyakit ini disebabkan oleh *Salmonella pullorum* (Hofstad, 1984) yaitu kuman yang mempunyai bentuk 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. Kuman *Salmonella pullorum* tumbuh optimum pada temperatur 37° C dan pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) membentuk koloni yang terpisah-pisah, jernih serta tembus pandang (Hagan dan Brunner, 1981).

**2.1.2. Penyebaran dan Cara Penularan Penyakit**

Penyakit Pullorum adalah penyakit infeksius yang tersebar luas dan berjalan akut pada anak ayam serta bersifat kronis pada ayam dewasa. Penyakit ini disebut juga *Ba ciliary White Diarrhea* atau diare putih anak ayam, *Pullorum Seuche* atau tifus ayam dan di Indonesia dikenal sebagai penyakit Berak Kapur (Ressang, 1984).

Penyakit ini 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).

Penyakit Pullorum di Indonesia sering ditemukan pada ayam ras dan secara serologis telah dapat dibuktikan dengan uji aglutinasi cepat pada darah ayam (Anonimus, 1992).

Penularan *Salmonella pullorum* dapat terjadi secara oral bersama makanan dan minuman, aerogen melalui udara yang tercemar biasanya melalui alat penetas yaitu melalui debu, bulu, pecahan kulit telur dan alat potong paruh. Cara lain penularan kuman *Salmonella pullorum* yang merupakan cara penularan terpenting adalah kongenital melalui telur (Hofstad, 1984).

### 2.1.3. Sifat Biokimiawi

*Salmonella pullorum* tumbuh pada suhu optimum 37° C dan bersifat aerob atau fakultatif anaerob, membentuk hidrogen disulfida (H<sub>2</sub>S), membentuk asam dari glukosa serta memfermentasi manosa tetapi tidak memfermentasi laktosa. Manosa dapat difermentasi tetapi jarang, sedang sukrosa umumnya dapat difermentasi. *Salmonella pullorum* tidak mempunyai enzim urease dan tidak menggunakan unsur karbon dari sumber sitrat (Hofstad, 1984; Kingscote, 1989).

Untuk mengisolasi *Salmonella pullorum* dibutuhkan media selektif antara lain *Salmonella Shigella Agar (SSA)*, *Mac Conkey Agar (MCA)* dan *Endo Agar*. *Salmonella pullorum* pada media tersebut menunjukkan pertumbuhan dengan

*Salmonella pullorum* pada media tersebut menunjukkan pertumbuhan dengan membentuk koloni yang halus, bulat, tembus cahaya dan tidak berwarna. Jika 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, pada daerah yang miring berwarna merah (basa) dan pada ujungnya 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 *Sulfit 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 (Jackson dan Simmon, 1981; Hofstad, 1984).

#### 2.1.4. Hewan Terserang

Diantara unggas, ayam merupakan ternak yang paling sering terserang *Salmonella pullorum* sehingga menimbulkan kerugian yang cukup besar bagi peternak ayam (Rumawati, 1976).

Selain ayam, kuman *Salmonella pullorum* juga menyerang kalkun, itik, burung gereja, angsa, burung puyuh, *pheasant*, burung kenari, *European bullfinches*. Mamalia yang dapat terinfeksi kuman *Salmonella pullorum* baik secara alami maupun secara eksperimental antara lain kelinci, babi, anak kucing,

rubah, anjing, babi hutan, mink, induk sapi dan tikus liar (*Rattus norvegicus*). Manusia juga dapat terinfeksi kuman *Salmonella pullorum* (Hofstad, 1984).

#### 2.1.5. Kerugian

Penyakit Pullorum sangat meresahkan peternak ayam 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) yang mencapai 90 % (Rumawas, 1976). Sedangkan pada ayam dewasa menimbulkan penurunan produksi, baik yang berupa penurunan laju pertambahan berat badan ataupun penurunan produksi telur (Anonimus, 1981).

#### 2.1.6. Gejala Klinis

Gejala anak ayam yang terinfeksi melalui udara atau aerogen pada waktu di dalam mesin tetas adalah radang paru-paru dan kantung hawa sehingga ayam menjadi sesak nafas. Diagnosa banding dari kesulitan bernafas pada penyakit pullorum adalah *Bronchitis Infectiosa* (IB) dan *New Castle Disease* (NCD) (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). Pada permulaan penyakit terlihat diare hijau yang lambat laun berubah menjadi putih (diare putih) dan disekitar dubur anak ayam tersebut menggumpal tinja kering dan putih yang menyerupai tahu atau kapur (Hofstad, 1984; Ressang, 1984).

Pada ayam dewasa gejala penyakit pullorum sukar dilihat, tetapi kadang-kadang menampakkan depresi, kekurusan, anemia, diare dan penurunan produksi telur. (Anonimus, 1981).

Penderita Pullorum yang sembuh akan bertindak sebagai karier dengan produksi dan daya tetas telur rendah kendati ada juga telur yang menetas tetapi anak ayam tersebut telah mengandung kuman *Salmonella pullorum*.

### 2.1.7. Patologi Anatomi

Perubahan patologi anatomi pada anak ayam yang mati segera setelah menetas tidak memperlihatkan perubahan yang jelas. Hati tampak membesar dan kongesti. Permukaan hati dapat bergaris-garis kemerahan (hemoragis) dan kadang-kadang disertai adanya foki-foki nekrotis. Selain itu pada hati sering diliputi eksudat berfibrin yang juga meliputi organ-organ lain di abdomen sedangkan lapisan subkapsular dan parenkim hati sering memperlihatkan titik-titik berdarah. Pecahnya pembuluh darah hati adalah suatu keadaan yang 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 diluarnya. Limpa membesar dengan perubahan jejas nekrotis milier (Hofstad, 1984).

Selain organ hati dan limfa, foki-foki nekrotis atau nodul-nodul dapat terlihat pada otot jantung, paru-paru, caecum, usus besar dan otot lambung. Pada banyak kasus sering terlihat adanya pericarditis. Ginjal mengalami kongesti atau

Nodul-nodul pada myocardium karena adanya distorsi dari jantung (Anonimus, 1981; Hofstad, 1984). Ovarium ayam dewasa tampak mengalami perubahan yaitu adanya folikel-folikel telur yang atrofi (Ressang, 1984).

#### 2.1.8. Diagnosis Penyakit

Diagnosa terhadap penyakit Pullorum dilakukan dengan melihat sejarah kelompok, gejala klinis, perubahan patologi anatomi dan isolasi identifikasi secara serologis. Uji serologis dapat dilakukan dengan metode: *Standart Tube Agglutination*, *Stained Antigen-Rapid Whole Blood Test* dan *Rapid Serum*.

Pada uji serologis dengan metode *Standart Tube Agglutination* diperlukan serum darah ayam tersangka dan antigen *Salmonella pullorum* standar. Campuran antara serum darah dan antigen dengan perbandingan 1 : 1 dimasukkan ke dalam tabung dan dieramkan selama 20 jam pada temperatur 37° C. Reaksi dinyatakan positif apabila terjadi aglutinasi pada dasar tabung dan cairan di atasnya jernih dan reaksi negatif apabila cairan dalam tabung tetap keruh sedangkan reaksi dubius apabila peralihan antara reaksi positif dan reaksi negatif. Uji serologis dengan metode *Stained Antigen-Rapid Whole Blood Test* sering dilakukan karena sangat sederhana dan hasilnya cepat diketahui, sehingga uji serologis ini disebut juga *Rapid Agglutination Test*. Pada uji tersebut satu bagian darah ayam tersangka (0,2 ml) dicampur dengan dua bagian *Stained Antigen Salmonella pullorum* (0,5 ml) pada gelas obyek dan digoyang-goyangkan sampai rata selama dua menit. Reaksi positif bila aglutinasi terjadi tidak lebih dari satu menit, dubius apabila aglutinasi terjadi antara satu sampai dua menit dan reaksi negatif apabila campuran tetap

homogen selama dua menit atau lebih (Seneviratna, 1969 seperti ya  
Armia, 1995)

Uji serologis dengan metode *Rapid Serum Test* dilakukan apabila uji *Rapid Whole Blood Test* hasilnya meragukan. Pada uji tersebut satu tetes serum dari darah ayam tersangka dicampur dengan satu tetes antigen standar *Salmonella pullorum* pada gelas obyek kemudian diaduk sampai rata. Reaksi positif apabila setelah beberapa detik terjadi aglutinasi dan reaksi negatif apabila tidak terjadi aglutinasi (Hofstad, 1984).

#### **2.1.9. Pengobatan dan Pengendalian**

Usaha pengendalian dan pemberantasan penyakit pullorum melalui pengobatan tidak memberikan hasil seperti yang diharapkan, oleh sebab itu tindakan pencegahan penyakit adalah sangat penting. Usaha pencegahan penyakit terutama ditekankan pada sanitasi kandang, makanan, minuman, halaman, fumigasi peralatan termasuk seleksi pemasukan ternak dengan ternak yang dipilih harus benar-benar bebas dari kuman *Salmonella pullorum* (Anonymous, 1981).

### **2.2. Tinjauan Probiotik**

#### **2.2.1. Sejarah dan Definisi**

Konsep Probiotik telah digunakan sejak tahun 1900-an tetapi baru dikembangkan oleh Lily dan Sillwell pada tahun 1965. Pada saat itu mereka mengartikan istilah Probiotik sebagai stimulasi terhadap pertumbuhan suatu mikroba oleh mikroba lain, dengan kata lain, Probiotik merupakan istilah lawan

kata antibiotika (Winarno, 1997). Sejak tahun 1970 penggunaan antibiotik khususnya pada unggas di Indonesia sangat intensif.

Sejalan dengan perkembangan ilmu, makna Probiotik menjadi luas, misalnya seperti pada tahun 1971 menyatakan bahwa Probiotik adalah ekstrak jaringan tubuh yang menstimulir pertumbuhan mikroorganisme. Stark dan Wilkinson 1989 membuat definisi seperti yang dikutip oleh Soeharsono (1997) bahwa Probiotik adalah suatu produk yang mengandung mikroorganisme hidup non patogen yang diberikan pada hewan untuk memperbaiki ransum dan meningkatkan kesehatan hewan. Fuller (1989) membuat definisi baru yang juga dikutip oleh Soeharsono (1997) bahwa Probiotik adalah *feed supplement* terdiri atas mikroorganisme hidup yang secara menguntungkan mempengaruhi induk semang melalui perbaikan keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan.

Saat ini istilah Probiotik berarti suatu preparat yang terdiri atas mikroorganisme 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 mikroorganisme alami yang tinggal di dalam tubuh manusia atau ternak tersebut (Winarno, 1997).

### **2.2.2. Pemilihan Jenis Bakteri**

Di negara maju telah dikembangkan suatu pedoman yang memuat kriteria yang ketat dalam seleksi pemilihan jenis bakteri agar mendapat strain yang aman

dan memiliki fungsi Probiotik yang tepat. Pilihan selalu jatuh pada bakteri asam laktat dengan alasan bahwa jenis bakteri tersebut jarang sekali bersifat patogen. Secara tradisional bakteri asam laktat yang telah banyak digunakan adalah *Lactobacilli* dan *Streptococcus* (Winarno, 1997). Bakteri ini bersifat Gram positif, tidak berspora, katalase negatif, tidak membentuk sitokrom, anaerob tetapi aero toleran, cepat berkembang biak, toleran terhadap asam serta mempunyai kemampuan fermentasi yang hampir sempurna (Rahayu, 1997).

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

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

### 2.2.3. Kegunaan dan Keuntungan Probiotik

Teknik terapi bakteri secara oral biasanya menggunakan strain yang terdapat dalam usus dari bakteri asam laktat, seperti misalnya *Lactobacillus* dan *Streptococcus*. Kedua jenis mikroba tersebut dapat memulihkan kembali keseim-

banagan flora usus, sehingga mencapai kondisi normal dan menghasilkan pengaruh yang menguntungkan (Winarno, 1997).

Probiotik dapat juga digunakan untuk memfermentasi produk-produk susu, seperti yogurt yang mengandung mikroorganisme hidup *Lactobacillus delbreckii subsp. bulgaricus*, *Str. thermophilus* dan susu acidophilus mengandung *Lactobacillus acidophilus*, sebagai makanan suplement dengan satu, dua atau lebih mikroba yang menguntungkan saluran pencernaan dan sebagai produk farmasetika dalam bentuk tablet, kapsul dan granul (Ray, 1996).

Secara biokemis, Probiotik mempunyai efek sebagai berikut : mereduksi jumlah enzim yang mampu merubah co-carcinogen menjadi carcinogen, menurunkan *laktose intolerance* dan menurunkan serum kolesterol (Ray, 1996).

Keuntungan dari pemakaian mikroorganisme hidup adalah kemampuannya untuk mencegah reaksi 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).

#### 2.2.4. Mekanisme Kerja

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang tidak patogen dengan mekanisme kerjanya mendesak mikroorganisme non indogenous keluar dari ekosistem saluran pencernaan dan menggantikan lokasi mikroorganisme patogen (translokasi) di dalam saluran pencernaan. Hal tersebut dikarenakan Probiotik

berasal dari mikroorganisme indogenous, maka proses translokasi yang terjadi dalam ekosistem usus bersifat alamiah. Dengan demikian mekanisme Probiotik dalam usus ialah mempertahankan keseimbangan, mengeliminasi mikroorganisme yang tidak diharapkan atau mikroorganisme patogen dari induk semang (Soeharsono, 1997).

Mikroorganisme yang terdapat dalam ekosistem komponennya terdiri atas makhluk biotik dan non biotik. Umumnya mikroorganisme dalam ekosistem tersebut membentuk koloni. Diperkirakan jumlah species mikroorganisme dalam usus mencapai 400 species yang diantaranya ada bersifat antagonistik (mikroorganisme tertentu akan menurunkan jumlah mikroorganisme lainnya) dan sinergistik (ada ketergantungan satu dengan yang lain) sehingga keduanya dapat berkembang Probiotik, bekerjanya secara simbiosis mutualisme dengan mikroorganisme setempat (Soeharsono, 1997).

Metabolisme setiap species sangat spesifik, metabolisme tersebut sebagian besar menguntungkan induk semang, dan ada sebagian lainnya berupa *detrimental* yang merugikan induk semang. Bila mikroorganisme patogen masuk, maka yang semula 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. Mikroflora *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 yang 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 mendesak atau mengencerkan mikroflora aktif di atas, sehingga pembentukan zat toksik dikurangi, atau sebelum terbentuk zat toksik, bahan tersebut sudah dibuang terlebih dahulu karena gerak peristaltik usus (Soeharsono, 1997).

#### **2.2.5. Keamanan Probiotik**

Bakteri baru seperti *Lactobacillus* dan *Streptococcus* dan strain yang lebih spesifik telah mulai digunakan untuk tujuan Probiotik dalam makanan. Sebelum dapat dimasukkan kedalam makanan, strain baru bakteri tersebut harus secara sangat hati-hati diuji dan diperiksa secara teliti baik terhadap keamanan maupun efektifitasnya bagi tujuan penggunaannya. Berbagai aspek keamanan dari bakteri Probiotik dapat diteliti dengan menggunakan metode *in vitro*, salah satu syarat harus *non invasive*, uji pada hewan percobaan untuk mengetahui tingkat keamanan dosis Probiotik yang diberikan, juga perlu dilakukan uji klinis (Winarno, 1997)

### **2.3. Tinjauan Oksiterasiklin**

#### **2.3.1. Sejarah Oksitetrasiklin**

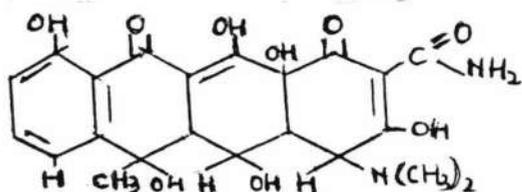
Oksitetrasiklin adalah salah satu jenis antibiotika yang berspektrum luas dan sering digunakan untuk pengobatan pada hewan. Antibiotika ini diisolasi dari *Streptomyces rimosus* pada tahun 1950 oleh organisasi penelitian komersial di

Amerika. Dalam perkembangan alami diperoleh dari mikroorganisme tersebut Oksitetrasiklin dapat dibuat secara sintetik. (Jawetz, 1986; Setiabudy, 1987).

### 2.3.2. Sifat Fisik dan Kimiawi

Setiap golongan Tetrasiklin mempunyai struktur kimia yang mirip satu dengan yang lain, misal Tetrasiklin, Oksitetrasiklin, Klortetrasiklin dan Doksisiklin yang sering digunakan dalam peternakan. (Martindale, 1989). Antibiotika tersebut mempunyai struktur dasar yang terdiri dari 4 cincin beratom C dan enam ikatan rangkap.

Struktur kimia Oksitetrasiklin adalah sebagai berikut :



(Sumber : Jawetz, 1986).

Bentuk bebas Oksitetrasiklin merupakan senyawa amfoter berbentuk serbuk hablur dengan kelarutan yang rendah. Tersedia dalam bentuk oksihidroklorid yang mempunyai sifat berwarna kuning, tidak berbau, pahit dan higroskopis. Dalam larutan pH 2 sampai 5 pada temperatur 25° C obat tersebut stabil tetapi dalam larutan pH kurang dari 2 potensinya turun sedangkan dalam larutan alkali hidroksida cepat rusak. Pada tempat tanpa sinar matahari atau pada temperatur di atas 90° C dalam udara lembab mudah terurai dan menghasilkan derivat pecahan anhidro dan epi-tetrasiklin yang toksik bagi ginjal (Setiabudy, 1987; Martindale, 1989).

### 2.3.3. Kemampuan Antibakterial

Oksitetrasiklin adalah antibiotika bersifat bakteriostatik terhadap bakteri gram positif dan negatif juga menghambat pertumbuhan riketsia, amoba, mikoplasma dan klamidia (Setiabudy, 1987). Oksitetrasiklin juga dapat mengobati beberapa penyakit infeksi seperti *Mastitis*, *Leptospirosis*, *Anaplasmosis*, *Salmonellosis*, dan *Chronic Respiratory Disease (CRD)*.

Oksitetrasiklin bekerja menghambat sintesa protein pada mikroorganisme dengan jalan mengikatkan diri ribosom 30 S dan menghalangi masuknya kompleks t-RNA-asam amino pada lokasi asam amino sampai menghambat penggabungan asam-asam amino (Gan, 1993).

### 2.3.4. Absorpsi, Distribusi, Metabolisme dan Ekskresi

Penggunaan Oksitetrasiklin secara *intra muskuler* 15 menit sesudah penyuntikan berada dalam darah dan kadar tertinggi dicapai dalam waktu satu jam penyuntikan. Di dalam tubuh banyak tertimbun Tetrasiklin dan kadar tertinggi ditemukan dalam hati, ginjal, limpa dan paru-paru. Obat tersebut dapat berdifusi dalam semua barier jaringan. Kadar efektif sebagai antibakterial ditemukan di seluruh tubuh dan peredaran darah fetus (Jawetz, 1986).

Metabolisme golongan Tetrasiklin terjadi di dalam hati dan pematannya terjadi di empedu kemudian direabsorpsi dari lumen usus dan diekskresikan dalam usus, dalam jumlah kecil Tetrasiklin juga ditemukan dalam feses hewan setelah pemberian tetrasiklin secara parenteral.

Pemberian parenteral golongan Tetrasiklin, 25 - 30% diekskresikan melalui urin dan aktifitas bakterialnya diketahui setelah kurang lebih tiga hari pengobatan sampai pemberian obat dihentikan (Setiabudy, 1987).

Golongan Tetrasiklin yang diekskresikan oleh hati ke dalam empedu mencapai kadar sepuluh kali dari kadar dalam serum. Sebagian besar obat yang diekskresikan dalam usus akan direabsorpsi kembali sehingga terjadi sirkulasi enterohepatik, dengan demikian obat tersebut masih terdapat dalam darah untuk waktu yang relatif lama setelah terapi dihentikan (Setiabudy, 1987).

#### **2.3.5. Efek Samping Oksitetrasiklin**

Penggunaan Oksitetrasiklin dalam jangka lama menimbulkan efek samping yang berupa kelainan darah tepi seperti leukositosis, granulositoksik dan trombositopenia (Setiabudy, 1987).

Hepatotoksisitas dapat terjadi pada pemberian dosis tinggi dan sering terjadi pada pemberian parenteral juga menyebabkan kelainan pada ginjal (Setiabudy, 1987).

### BAB III

## MATERI DAN METODE

### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya mulai tanggal 26 Maret sampai 29 April 1998.

### 3.2. Materi Penelitian

#### 3.2.1. Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas Probiotik *Acid Pak 4 Way* (AP 4 W) dalam bentuk serbuk produksi P.T. Romindo Primavetcom, Oksitetrasiklin (Terramycin) produksi P.T. Pfizer Indonesia Jakarta, biakan *Salmonella pullorum* dari Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, media selektif pertumbuhan *Salmonella spp* seperti *Salmonella Shigella Agar* (SSA), akuades, *Nutrient Broth* dan media identifikasi *Salmonella spp* antara lain media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfid Indol Motility* (SIM), *Citrat, Urease dan Gula-Gula*.

#### 3.2.2. Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain api bunsen, rak dan tabung reaksi, spatula, jarum pemupuk, timbangan Sartorius, gelas ukur, ose, pipet, cawan petri, inkubator. Semua alat yang digunakan dalam keadaan steril.

### 3.3. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan uji kepekaan metode dilusi (Finegold dan Baron, 1986; Carter dan Cole, 1990).

#### 3.3.1. Persiapan Penelitian

##### 3.3.1.1. Isolasi dan Identifikasi *Salmonella pullorum*

Isolasi dan identifikasi kuman *Salmonella pullorum* dilakukan dengan cara penanaman isolat kuman yang sebelumnya disimpan di lemari es dimasukkan dalam inkubator dengan temperatur 37° C selama dua jam, setelah itu isolat ditanam pada media SSA dengan cara goresan (*streak*), kemudian diinkubasi pada temperatur 37° C selama 24 jam sehingga didapat hasil pertumbuhan berbentuk koloni bulat dan transparan. Koloni hasil dari pupukan dilanjutkan dengan pengujian biokimia yang terdiri dari uji TSIA, uji Indol atau SIM, uji Urea, Sitrat dan Gula-gula. Apabila pada pengujian pembuktian ternyata hasilnya *Salmonella pullorum*, maka koloni hasil pupukan pada media SSA ini digunakan untuk pembuatan suspensi *Salmonella pullorum*.

##### 3.3.1.2. Pembuatan Suspensi

Empat koloni hasil pupukan dari media SSA dengan menggunakan ose dimasukkan ke media *nutrient broth* sebanyak empat sampai lima mililiter yang selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° C selama empat sampai delapan jam. Hasilnya dicocokkan dengan standard Mc Farland 1 dengan jumlah perkiraan kuman sebanyak  $3 \times 10^8$  per mililiter. (Carter dan Cole, 1990).

### 3.3.1.3. Pembuatan Larutan Oksitetrasiklin

Pengenceran Oksitetrasiklin dilakukan dengan cara mencampurkan Oksitetrasiklin satu gram ke dalam satu liter akuades (konsentrasi 1000 ppm) yang dianggap sebagai konsentrasi awal. Selanjutnya diencerkan sedemikian rupa sehingga didapatkan konsentrasi 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,50 ppm, 31,25 ppm, 15,60 ppm, 7,80 ppm, 3,90 ppm, dan 1,95 ppm.

### 3.3.1.4. Pembuatan Larutan Probiotik

Pengenceran Probiotik dilakukan dengan cara mencampurkan Probiotik satu gram ke dalam satu liter akuades (konsentrasi 1000 ppm) yang dianggap sebagai konsentrasi awal. Selanjutnya diencerkan sedemikian rupa sehingga didapatkan konsentrasi 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,50 ppm, 31,25 ppm, 15,60 ppm, 7,80 ppm, 3,90 ppm, dan 1,95 ppm.

### 3.3.2. Pelaksanaan Penelitian

Uji *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) digunakan untuk mengetahui konsentrasi minimal yang diperlukan larutan antimikroba untuk menghambat pertumbuhan kuman tertentu. Cara kerjanya MIC adalah dengan membuat pengenceran Oksitetrasiklin konsentrasi 100 % menjadi beberapa konsentrasi. Sebelas tabung reaksi steril disiapkan dan diberi nomor satu sampai sebelas. Tabung nomor dua sampai sepuluh masing-masing diisi akuades steril satu mililiter. Tabung nomor satu diisi larutan Oksitetrasiklin satu mililiter, kemudian tabung nomor dua diisi Oksitetrasiklin satu mililiter dan dicampur sampai homogen, dilanjutkan

mengambil satu mililiter pada tabung nomor dua dan dimasukkan pada tabung nomor tiga. Demikian seterusnya sampai tabung nomor sepuluh.

Larutan dari tabung nomor sepuluh diambil satu mililiter untuk dibuang. Tabung nomor sebelas sebagai kontrol akuades. Tabung nomor satu sampai sepuluh masing-masing ditambah suspensi kuman sebanyak satu mililiter dan dikocok sampai homogen, diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam dan dilihat kekeruhannya.

Perlakuan pada Probiotik dikerjakan sama halnya seperti pada Oksitetrasiklin, setelah itu pada masing-masing tabung diambil koloni kuman sebanyak 0,1 ml dengan pipet kemudian ditanam pada media SSA dengan cara goresan (*streak*) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Hasil yang diamati merupakan MBC yaitu konsentrasi terendah dengan tidak adanya pertumbuhan kuman pada media uji (Finegold dan Baron, 1986).

Uji MIC dan MBC Probiotik dan Oksitetrasiklin masing-masing dilakukan dengan ulangan sebanyak lima belas kali.

#### **3.4. Peubah yang Diamati.**

Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah konsentrasi terendah yang ditunjukkan oleh penghentian pertumbuhan kuman *Salmonella pullorum* pada media uji (MBC) secara sempurna.

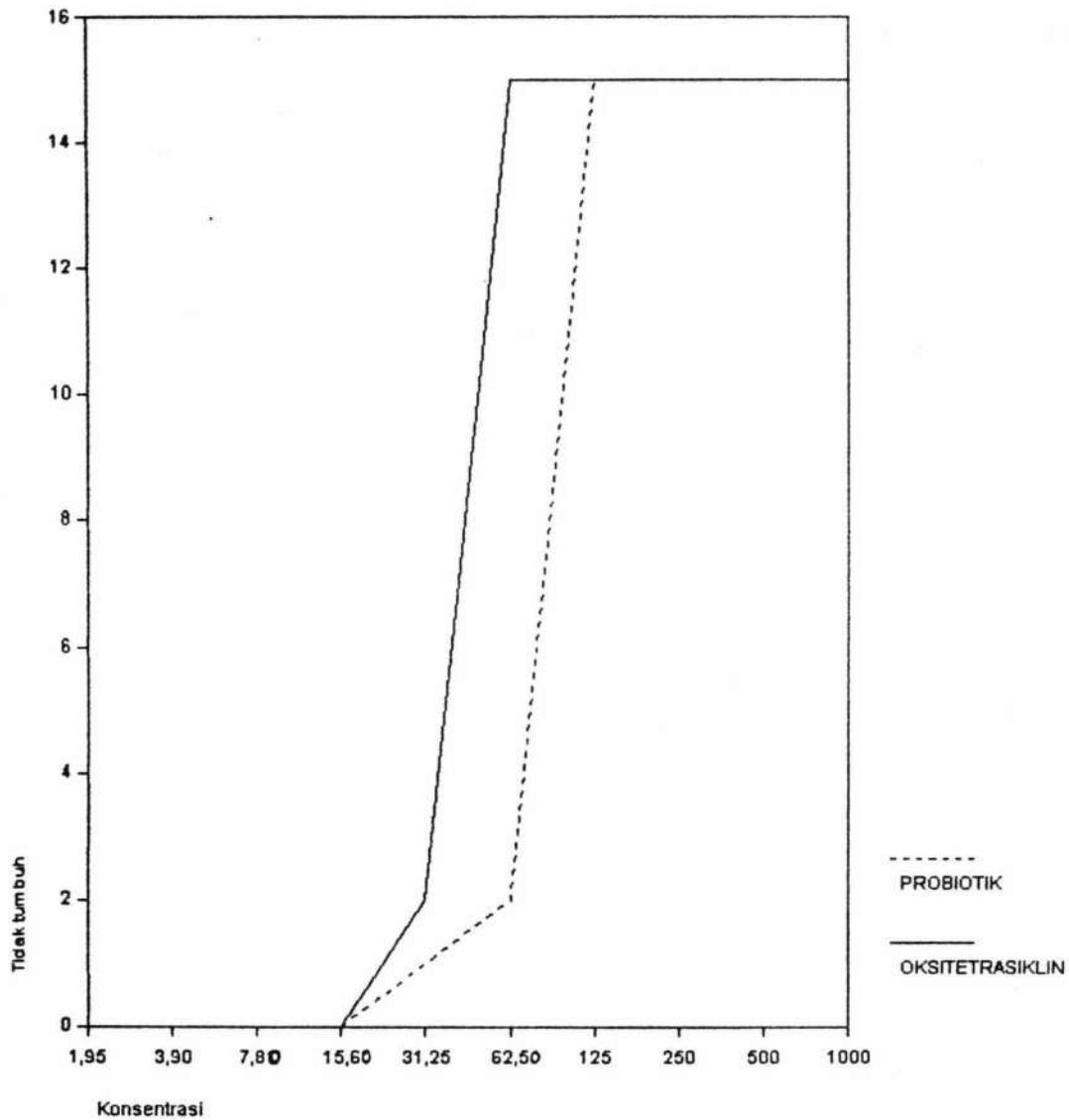
#### **3.5. Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisa probit. (SPSS for Windows).

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa kemampuan Oksitetrasiklin dan Probiotik dalam membunuh kuman *Salmonella pullorum* mempunyai pola yang sama yaitu semakin besar konsentrasi yang digunakan semakin besar pula *Salmonella pullorum* yang mati ( $p > 0,05$ ). Gambar mengenai pola antibakterial Probiotik dan Oksitetrasiklin terhadap *Salmonella pullorum* disajikan dalam gambar 2. Dengan mentransformasikan ke dalam bentuk logaritma maka didapatkan persamaan  $y = (-4,78 \pm 0,8) + (5,46 \pm 0,89)x$  untuk Probiotik dan  $y = (-2,71 \pm 0,60) + (5,46 \pm 0,89)x$  untuk Oksitetrasiklin, dengan  $y$  merupakan jumlah *Salmonella pullorum* yang mati dan  $x$  merupakan konsentrasi antibakterial dari kedua sediaan. Konsentrasi tengah Probiotik yang diperlukan membunuh *Salmonella pullorum* dibanding dengan Oksitetrasiklin dalam hal membunuh *Salmonella pullorum* tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ).



Gambar 2. Hasil Analisis Probit Pada Bagian Yang Tidak Ditumbuhi Kuman *Salmonella pullorum* Dengan Beberapa Konsentrasi Yang Diulang Sebanyak Lima Belas Kali Setelah Perlakuan Probiotik Dan Oksitetrasiklin.

## BAB V

### PEMBAHASAN

Probiotik pada awalnya hanya untuk meningkatkan kesehatan khususnya kesehatan manusia. Namun akhir-akhir ini banyak penelitian tentang manfaat Probiotik untuk kesehatan dan produksi ternak serta mencegah penyakit.

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup non patogen yang mempunyai beberapa fungsi salah satunya adalah mengontrol penyakit dengan mendesak mikroorganisme patogen keluar dari dalam saluran pencernaan dan membantu merangsang kerja mikroorganisme sejenis sehingga dapat memulihkan kembali keseimbangan flora usus mencapai kondisi normal serta menghasilkan pengaruh yang menguntungkan (Soeharsono, 1997; Winarno, 1997).

Hasil dari penelitian secara *in vitro* mengenai *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) diketahui bahwa pada konsentrasi 1000 ppm sampai 125 ppm, baik Probiotik maupun Oksitetrasiklin menunjukkan kemampuan membunuh kuman *Salmonella pullorum* atau dapat menghentikan pertumbuhan kuman. Sedangkan pada konsentrasi di bawah 125 ppm untuk Probiotik dan konsentrasi di bawah 62,5 ppm untuk Oksitetrasiklin tidak mempunyai kemampuan membunuh kuman *Salmonella pullorum*. (lampiran 4).

Bahan antimikrobia antara satu dengan yang lain berbeda terutama daya antimikrobia bahan tersebut terhadap kuman. Perbedaan tersebut dapat disebabkan karena perbedaan konsentrasi dan jenis kandungan zat di dalam bahan

antimikrobia, dan tergantung juga dari jenis dan jumlah kuman (Pelczar dan Chan, 1981; Volk dan Wheeler, 1984).

Konsentrasi dan jenis zat yang terdapat dalam bahan antimikrobia akan mempengaruhi kemampuan dalam menghambat maupun membunuh kuman. Pelczar dan Chan (1981) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi bahan antimikrobia maka makin tinggi pula jumlah mikroorganisme yang terbunuh. Bahan antimikrobia dengan mekanisme kerja bakterostatik (menghambat pertumbuhan kuman) dengan konsentrasi yang sedikit lebih tinggi dapat menjadi bakteriosidik (membunuh kuman).

Jumlah dan jenis kuman juga berpengaruh terhadap daya antimikrobia suatu bahan antimikrobia. Jenis kuman terutama yang berspora dan berkapsul lebih tahan terhadap jenis antimikrobia tertentu.

Berdasarkan analisa statistik diperoleh hasil bahwa diantara kedua perlakuan yaitu Probiotik dan Okasitetrasiklin tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini menunjukkan bahwa Probiotik maupun Oksitetrasiklin mempunyai daya antibakterial terhadap kuman *Salmonella pullorum*. Cara kerja Oksitetrasiklin adalah dengan menghambat sintesa protein kuman yaitu dengan mengikatkan diri dengan reseptornya yang terdapat pada ribosom subunit 30 S dari kuman. Selanjutnya terjadi perubahan sistem pengenalan ribosom yang menyebabkan kesalahan pembacaan pesan oleh m-RNA. Kesalahan tersebut karena kegagalan asam amino t-RNA untuk mengenal kodon yang sesuai, akibatnya terjadi kesalahan penyisipan asam amino dalam rantai peptida sehingga dihasilkan protein yang tidak berfungsi. Kemudian Oksitetrasiklin merombak rantai peptida dari yang seharusnya polisom menjadi monosom dimana monosom tidak mempunyai kemampuan untuk

mensintesa protein. Adanya dua aktifitas yang bersamaan menyebabkan kematian pada kuman yang bereaksi dengan Oksitetrasiklin. (Setiabudi, 1987).

Probiotik bekerja dengan menghasilkan asam laktat yang dapat menyebabkan keasaman hingga mencapai pH 4 atau kurang di saluran pencernaan. (pH normal 3 - 4 ). Penurunan pH di dalam saluran pencernaan menyebabkan *stress sublethal* kuman *Salmonella pullorum* sehingga bahan antimikrobal yang dihasilkan Probiotik masuk ke dalam sel dan menghambat sel bakteri patogen tersebut (Anonimus, 1992; Ray, 1996). Selain asam laktat, Probiotik juga mengeluarkan komponen antimikrobal yang lain yaitu bakteriosin (*Lactosidin, Acidophilin, Diplococcin*),  $H_2O_2$  (fungsi: mengoksidasi sel-sel penyusun dan membunuh sel-sel bakteri) dan asam-asam organik yang mampu menghambat kolonisasi kuman *Salmonella pullorum* di dalam usus ayam sehingga dengan mudah kuman tersebut dikeluarkan dari ekosistem saluran pencernaan sehingga flora normal usus dapat tetap dipertahankan (Bilgili dan Moran, 1990; Hames dan Tichaczek, 1994; Ray, 1996).

Secara normal bakteri gram negatif tahan terhadap bakteriosin, tetapi pada keadaan *stress sublethal*, kering beku, percobaan (penambahan) bahan asam, bakteri gram negatif dapat ditembus bakteriosin dengan mengganggu membran sehingga molekul bakteriosin masuk ke dalam dan melakukan kontak dengan membran sitoplasma. Adanya gangguan fungsi membran sitoplasma dari bakteri gram negatif ini, maka akan menyebabkan bakteri gram negatif dapat terbunuh (Ray, 1996).

Perbedaan cara kerja tersebut menunjukkan baik Oksitetrasiklin dan Probiotik mempunyai kemampuan daya antibakterial dalam menghentikan pertumbuhan atau membunuh kuman *Salmonella pullorum*.

Meskipun Oksitetrasiklin mempunyai daya antibakterial tetapi pemakaian Oksitetrasiklin dapat menimbulkan residu dalam jaringan yaitu dengan adanya metabolit toksik yang menyebabkan kerusakan mukosa usus, karsinogenik (kanker kolon), resistensi (tahan terhadap antibiotika), mutasi mikroorganisme. (Setiabudy, 1987).

Probiotik yang merupakan mikroorganisme hidup tidak menyebabkan residu, mutasi mikroorganisme dan resistensi tetapi dengan cara kerja mendesak atau megeliminasi mikroorganisme patogen keluar dari dalam tubuh, disamping itu Probiotik juga berfungsi ganda yaitu dengan mensuplai enzim untuk membantu proses pencernaan, menstimulasi sistem imun saluran pencernaan, mempunyai faktor anti karsinogenik dan dapat menurunkan serum kolesterol (Winarno, 1997).

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian tentang daya antibakterial Probiotik dan Oksitetrasiklin terhadap *Salmonella pullorum* dengan metode dilusi maka dapat disimpulkan bahwa daya antibakterial Probiotik tidak berbeda nyata dengan daya antibakterial Oksitetrasiklin dalam menghentikan pertumbuhan kuman *Salmonella pullorum* secara *in vitro*.

#### Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan dapat disampaikan saran sebagai berikut :

1. Penelitian lebih lanjut menggunakan kuman patogen selain *Salmonella pullorum* dan diuji kepekaannya terhadap Probiotik baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.
2. Usaha pengobatan terhadap *Salmonella pullorum* dapat juga digunakan Probiotik sebagai pilihan selain Oksitetrasiklin tanpa menimbulkan resiko residu dan resistensi.

## RINGKASAN

**DWI KURNIATI NEGORO.** Daya Antibakterial Antara Probiotik dan Oksitetrasiklin Terhadap *Salmonella pullorum* Secara *In Vitro* (dibawah bimbingan Angela Mariana L., M.Si., drh. sebagai pembimbing pertama dan Paridjata W., M.Agr.Sc., drh. sebagai pembimbing kedua).

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui daya antibakterial antara Probiotik dan Oksitetrasiklin terhadap kuman *Salmonella pullorum* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan metode dilusi dengan dua perlakuan yaitu Probiotik dan Oksitetrasiklin dengan konsentrasi 1,95 ppm, 3,90 ppm, 7,80 ppm, 15,60 ppm, 31,25 ppm, 62,50 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 100 ppm. Masing-masing diambil satu mililiter kemudian ditambahkan satu mililiter kuman *Salmonella pullorum* yang disesuaikan dengan standar Mc Farland 1. Setelah diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam dan ditanam pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam kemudian dilihat hasilnya. Perlakuan diulang sebanyak lima belas kali.

Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah konsentrasi terendah dari Probiotik dan Oksitetrasiklin sehingga tidak ditemukan pertumbuhan kuman (MBC). Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisa probit.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata dan berarti antara Probiotik dan Oksitetrasiklin mempunyai daya antibakterial secara *in vitro*.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa Oksitetrasiklin maupun Probiotik mempunyai daya antibakterial terhadap *Salmonella pullorum* tetapi penggunaan Oksitetrasiklin dapat menyebabkan residu dan mutasi, sedangkan penggunaan Probiotik tanpa resiko adanya residu dan tidak menyebabkan mutasi dan resistensi kuman.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1979. The Merk Veterinary Manual, A Hand Book of Diagnosis and Therapy for The Veterinarian. 5th Ed. Merck and Co. Inc. Rahway, NJ. U.S.A 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 Laboratorium Bakteriologi dan Mikologi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. 19 - 25.
- Anonimus. 1997. Probiotik Pemanfaatannya dalam Pakan Ternak. Balitnak Bogor. 3 - 4.
- Armiati, K. 1995. Uji Kepekaan *Salmonella pullorum* terhadap Kloramfenikol dan Oksitetrasiklin Secara In Vitro dengan Metode Difusi Disk. Skripsi. Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 11.
- 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.
- Carter, G.R. and J.R. Cole Jr. 1990. Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Micology. 5<sup>th</sup> Ed. Antimicrobial Agents and Susceptibility.
- Finegold S.M. and Allen Jo Baron. 1986. Diagnostic Microbiology. 7<sup>th</sup> Ed. The CV Mosby Company. St. Louis.
- Gan, V.H.S. 1993. Pengantar Antimikroba Farmakologi dan Terapi. Ed. 2. Bagian Farmakologi Kedokteran Universitas Airlangga. 443 - 461.
- Hagan, W.A. and D.W. Brunner. 1981. The Infectious Diseases of Domestic Animal with Special Reference to Etiology and Biologic Therapy, 3<sup>rd</sup> Ed. Camstock Publishing Associate, A. Division of Cornell University Press. Ithaca, New York. 90 - 93.
- Hames, W.P. and P.S. Tichacek. 1994. The Potential of Lactic Acid Bacteria for The Production of Safe and Wholesome Food. Z. Lebensm-Unters-Forsch. 198 (3) (Abrstk); 193 - 201.
- Hofstad, M.S. 1984. Diseases of Poultry. 8<sup>th</sup> Ed. Angus and Robertson. Sidney, Melbourne. 231 - 250.

- Jackson, C.A.W. and G.C. Simmons. 1981. Standart Diagnostic Technique for Pullorum Diseases. 1<sup>st</sup> Ed. The Australian Bureun of Animal Health. Australia. 1 – 10.
- Jawetz, E. 1986. Prinsip Kerja Obat Antimikroba. *In* : Katzung, B.G. Farmakologi Dasar Klinik. Ed. 3. Penerbit Buku Kedokteran, EGG. 608 – 627.
- Kingscote, B. 1989. Veterinary Microbiology Introduction to Bacteria and Virology. 7<sup>th</sup> Ed. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 285 – 3098.
- Martindale. 1989. The Extra Pharmacopoeia. 29<sup>th</sup> Ed. The Pharmaceutical Press. London. 279 – 280.
- Pelczar, M.J. and C.S. Chan. 1981. Element of Microbiology International Student. Mc Graw Hillbook Company. 307 – 371.
- Rahayu, E.S. 1997. Bakteri Asam Laktat sebagai Penghasil Agensia Antimikroba. Seminar. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 1 – 8.
- 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.
- Ray. B. 1996. Fundamental Food Microbiology. CRC Press. New York. 191 – 200.
- Setiabudy, R. 1987. Golongan Tetrasiklin dan Kloramphenikol. Farmakologi dan Terapi. Ed. 2. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 527 – 532.
- Soeharsono, H.1997. Probiotik Alternatif Pengganti Antibiotika. Buletin PPSKI. No. 9. 3 – 5.
- Volk, W.A. and M.F. Wheeler. 1984. Basic Microbiology. 5<sup>th</sup> Ed. Harper and Row Publisher. 50 – 326.
- Winarno, F.G., 1997. Probiotik dan Keamanan Pangan. Seminar. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.

# LAMPIRAN

Lampiran 1. Konsentrasi Minimal Daya Hambat Bakteri (MIC) Probiotik dan Oksitetrasiklin Terhadap Kuman *Salmonella pullorum*

Ulangan	Konsentrasi	
	Probiotik (ppm)	Oksitetrasiklin (ppm)
1	250	62,50
2	250	62,50
3	62,50	15,63
4	250	31,25
5	250	15,63
6	31,25	15,63
7	31,25	15,63
8	62,50	62,50
9	62,50	7,80
10	62,50	62,5
11	250	62,5
12	250	31,25
13	62,50	7,80
14	125	7,80
15	62,50	31,25

**Lampiran 2. Konsentrasi Bunuh Bakteri Minimal (MBC) Probiotik yang Mempunyai Daya Antibakterial Terhadap Kuman *Salmonella pullorum* dengan Jumlah Kuman  $3 \times 10^8$  per ml.**

Ulangan	Konsentrasi Probiotik (ppm)									
	1,95	3,90	7,80	15,63	31,25	62,50	125	250	500	1000
1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
3	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
4	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
6	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
7	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
9	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
11	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
12	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
13	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
14	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Keterangan : (+) = Tidak tumbuh  
 (-) = Tumbuh

**Lampiran 3. Konsentrasi Bunuh Bakteri Minimal (MBC) Oksitetrasiklin yang Mempunyai Daya Antibakterial Terhadap Kuman *Salmonella pullorum* dengan Jumlah Kuman  $3 \times 10^8$  per ml.**

Ulangan	Konsentrasi Oksitetrasiklin (ppm)									
	1,95	3,90	7,80	15,63	31,25	62,50	125	250	500	1000
1	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
3	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
4	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
6	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
7	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
8	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
9	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
11	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
12	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
13	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
14	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

Keterangan : (+) = Tidak tumbuh

(-) = Tumbuh

**Lampiran 4. Hasil Pengamatan Pertumbuhan Kuman *Salmonella Pullorum* Setelah Perlakuan Probiotik dan Oksitetrasiklin.**

Konsentrasi (ppm)	Probiotik		Oksitetrasiklin	
	Tumbuh	Tidak tumbuh	Tumbuh	Tidak tumbuh
1000	0	15	0	15
500	0	15	0	15
250	0	15	0	15
125	0	15	0	15
62,5	12	3	0	15
31,25	14	1	12	3
15,63	15	0	15	0
7,80	15	0	15	0
3,90	15	0	15	0
1,95	15	0	15	0

## \*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*

## DATA Information

19 unweighted cases accepted.  
 0 cases rejected because of out-of-range group values.  
 1 cases rejected because of missing data.  
 0 cases are in the control group.  
 0 cases rejected because LOG-transform can't be done.

## Group Information

PERLAKUÁ	Level	N of Cases	Label
1	10	1	Probiotik
2	9	2	Oksitetrasiklin

## MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

Number of iterations = 20  
 Optimal solution not found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
KONSENTR	5,46585	0,88661	6,16489

Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.	PERLAKUÁ
-4,78237	0,79615	-6,00690	1
-2,71273	0,60418	-4,48992	2

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 8,067 DF = 16 P = 0,947  
 Parallelism Test Chi Square = 1,000E-08 DF = 1 P = 1,000

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

\*\*\*\*\*

## Lampiran 6. Uji Biokimia yang Digunakan pada Penelitian.

### Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Pemupukan pada media TSIA dilakukan dengan mengambil kuman dari biakan murni dengan menggunakan needle steril, lalu dipupuk dengan cara tusukan pada bagian dasar tabung agar dan goresan pada bagian agar yang miring kemudian media dieramkan pada temperatur 37° C selama 24 jam.

Pemupukan pada media TSIA bertujuan untuk mengetahui kemampuan kuman memfermentasikan glukosa, laktosa, sukrosa dan juga mengetahui apakah kuman membentuk H<sub>2</sub>S dan gas.

### Sulfit Indol Motility (SIM)

Cara pemupukan pada media SIM ini dengan mengambil koloni dari kultur murni kemudian ditusukkan sampai dengan setengah bagian pada media, lalu dieramkan pada temperatur 37° 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 dan hasil yang negatif tidak menunjukkan adanya cincin indol yang berwarna merah.

### Citrat Agar

Cara pemupukan pada media ini dengan melakukan penggoresan pada permukaan media. Tujuannya untuk mengetahui apakah kuman menggunakan unsur karbon dari yang negatif tidak menunjukkan adanya cincin citrat atau tidak. Hasil

positif bila media menunjukkan perubahan warna dari hijau menjadi biru dan hasil negatif bila media tetap berwarna hijau.

### **Urea Agar**

Mengambil kultur murni kuman dengan ose steril untuk digoreskan pada permukaan miring media urea agar. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah kuman dapat menghidrolisa urea menjadi amoniak. Kuman-kuman yang dapat menghidrolisa urea akan memberikan warna media menjadi merah.

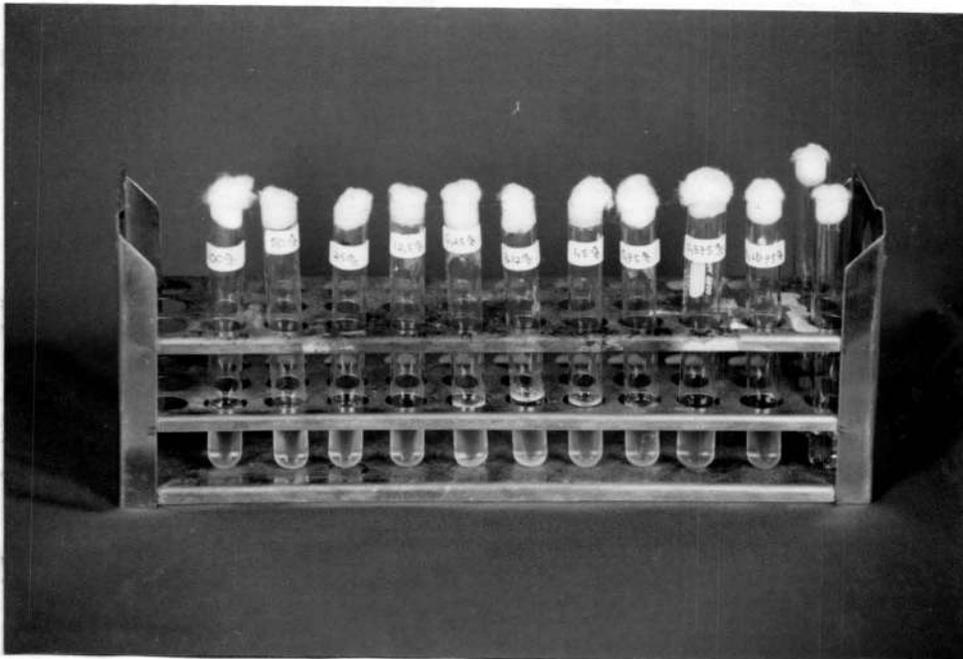
### **Uji Gula-Gula**

Cara pemupukan media ini dengan mengambil kuman dengan ose steril kemudian dicelupkan dalam media. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah kuman memfermentasi gula-gula atau tidak.

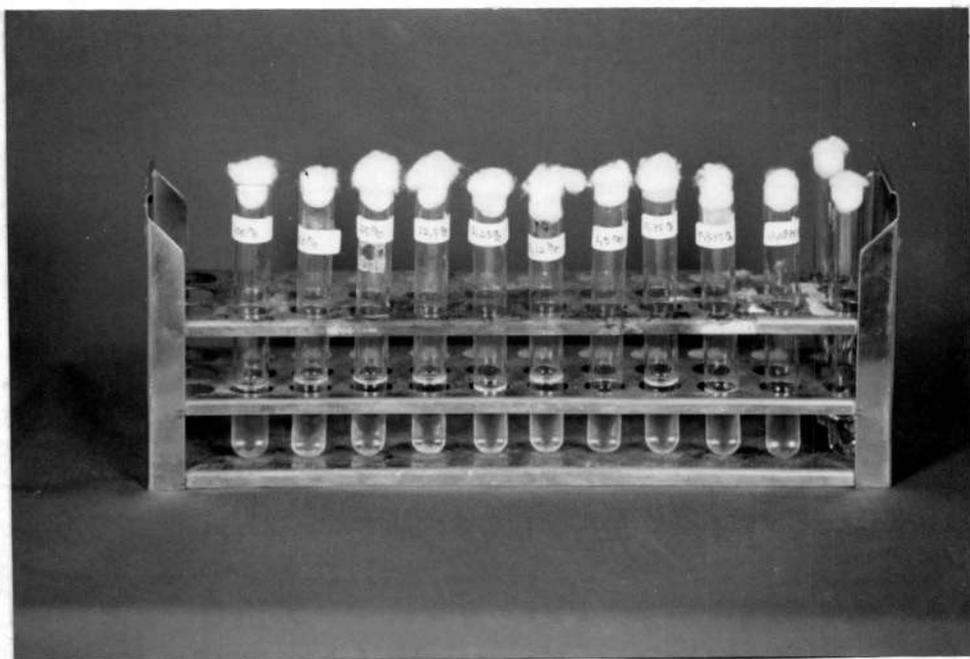
Lampiran 7. Hasil Identifikasi Kuman *Salmonella pullorum*

Media		<i>Salmonella pullorum</i>
TSIA	Basa/Asam	+
	H <sub>2</sub> S	+
	Gas	+
SIM	Motilitas	-
	Indol	-
	H <sub>2</sub> S	+
Citrat		-
Urease		-
Glukosa		+
Laktosa		-
Manitol		+
Maltosa		+
Sukrosa		+

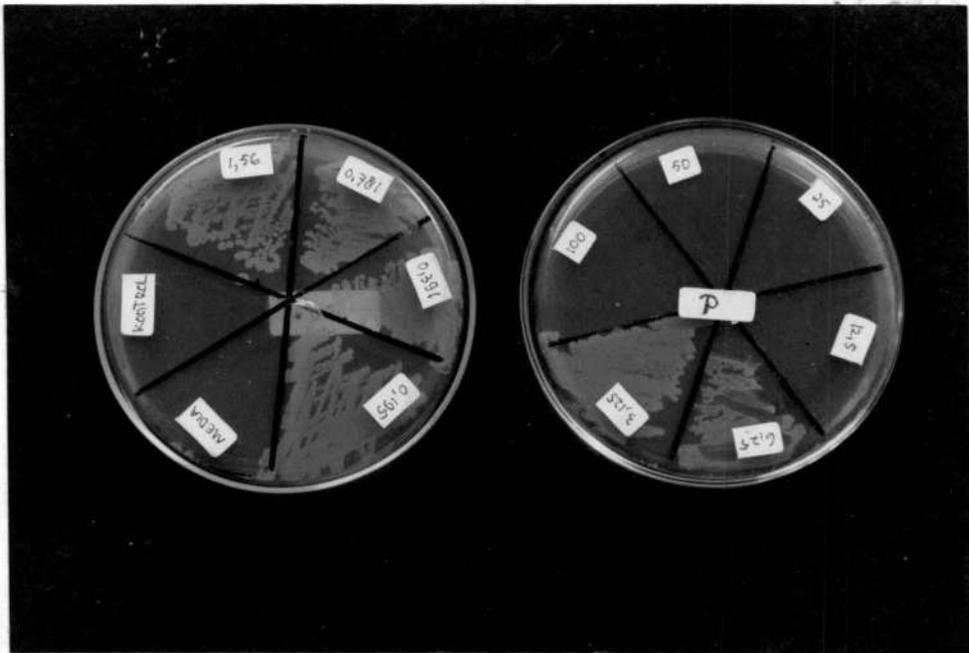
# G A M B A R



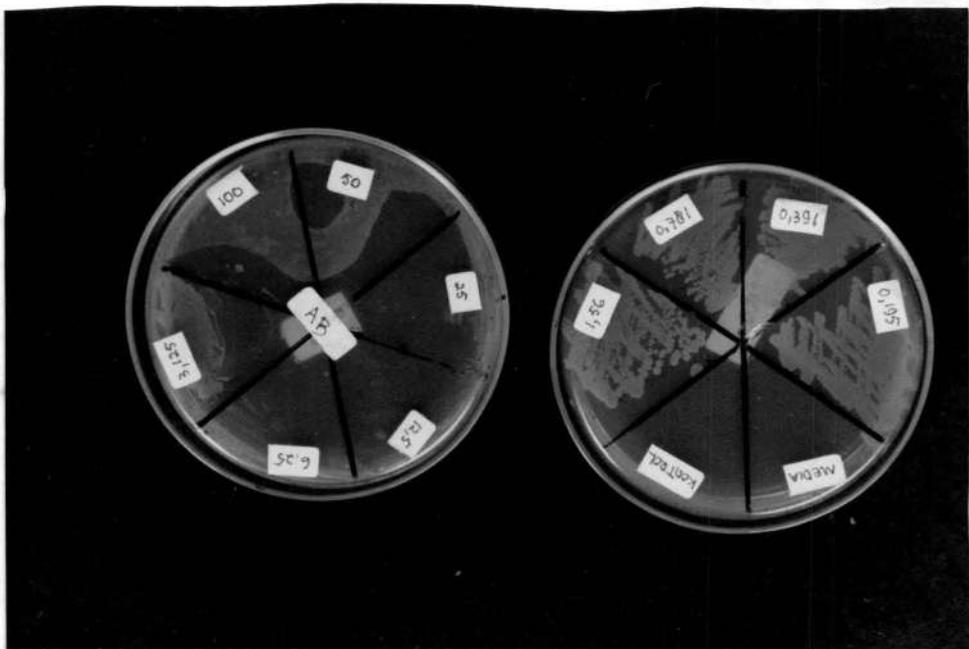
Gambar 3. *Minimal Inhibitory Concentration (MIC)* yang terbentuk Setelah Pemberian Probiotik Terhadap Kuman *Salmonella pullorum* yang Diinkubasi Selama 24 jam pada Suhu 37° C.



Gambar 4. *Minimal Inhibitory Concentration (MIC)* yang Terbentuk Setelah Pemberian Oksitetrasiklin Terhadap Kuman *Salmonella pullorum* yang Diinkubasi Selama 24 jam pada Suhu 37° C.



Gambar 5. *Minimal Bactericidal Concentration (MBC)* yang Terbentuk Setelah Pemberian Probiotik Terhadap Kuman *Salmonella pullorum* yang Diinkubasi Selama 24 jam pada Suhu 37° C.



Gambar 6. *Minimal Bactericidal Concentration (MBC)* yang Terbentuk Setelah Pemberian Oksitetrasiklin Terhadap Kuman *Salmonella pullorum* yang Diinkubasi Selama 24 jam pada Suhu 37° C.