

# SKRIPSI

## **EKSPRESI IFN- $\gamma$ PADA ILEUM AYAM PETELUR YANG DIVAKSIN AVIAN INFLUENZA DAN DIBERI SUPLEMENTASI PROBIOTIK-CHLORELLA**



Oleh :

**RETNO WULAN HANDAYANI**

**NIM 060313148**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007**

STAS RIJSTEN NAYA MELI AGAN y-HUI IPHATON  
KRETO WULAN HANDAYANI  
KIM 0803198



: 1910

RETO WULAN HANDAYANI

KIM 0803198

UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007

**EKSPRESI IFN- $\gamma$  PADA ILEUM AYAM PETELUR YANG DIVAKSIN  
AVIAN INFLUENZA DAN DIBERI SUPLEMENTASI  
PROBIOTIK - *CHLORELLA***

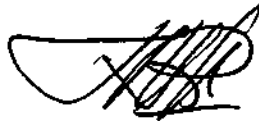
Skripsi  
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
Pada  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Oleh

RETNO WULAN HANDAYANI  
NIM 060313148

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



Prof. Dr. Hj. Sri Subekti B.S., DEA., Drh  
Pembimbing Pertama



Yeni Dhamayanti, M.Kes., Drh  
Pembimbing Kedua



## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul:

**EKSPRESI IFN- $\gamma$  PADA *ILEUM* AYAM PETELUR YANG DIVAKSIN AVIAN INFLUENZA DAN DIBERI SUPLEMENTASI PROBIOTIK – *CHLORELLA***

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, November 2007



Retno Wulan Handayani  
NIM. 060313148



**Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian**

**Tanggal : 7 Desember 2007**

**KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN**

**Ketua** : Dr. Garry Cores De Vries, M.Sc., M.S., Drh  
**Sekretaris** : Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., Drh  
**Anggota** : Jola Rahmahani, M.Kes., Drh  
**Pembimbing I** : Prof. Dr. Hj. Sri Subekti B.S., DEA., Drh  
**Pembimbing II** : Yeni Dhamayanti, M.Kes., Drh





Telah diuji pada

Tanggal : 17 Desember 2007

**KOMISI PENGUJI SKRIPSI**

**Ketua** : Dr. Garry Cores De Vries, M.Sc., M.S., Drh

**Anggota** : Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., Drh

Jola Rahmahani, M.Kes., Drh

Prof. Dr. Hj. Sri Subekti B.S., DEA., Drh

Yeni Dhamayanti, M.Kes., Drh

Surabaya, 19 Desember 2007

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., Drh

NIP. 130 687 305



**THE EXPRESSION OF IFN- $\gamma$  OF ILEUM'S LAYER WHICH HAS VACCINATED BY AVIAN INFLUENZA AND SUPPLEMENTED WITH PROBIOTIC-CHLORELLA**

Retno Wulan Handayani

**ABSTRACT**

The purpose of this study was to find out the expression of IFN- $\gamma$  of ileum's layer which has vaccinated and supplemented with Probiotic-*Chlorella*. This research used factorial completely random design with six treatments and each treatment repeated seven times. Treatments group consisted of basal protein feed control, low protein feed control, Probiotic supplementation in basal protein feed, Probiotic supplementation in low protein feed, Probiotic-*Chlorella* supplementation in basal protein feed and Probiotic-*Chlorella* supplementation in low protein feed. The ileum's layer was collected after twenty four weeks old. The expression of IFN- $\gamma$  was explored by immunohistochemical technique. The data were analyzed by *Kruskal –Wallis One – Way Analysis Of Variance By Rank* used SPSS for windows 12. The result of this research is supplementation of Probiotic-*Chlorella* can increase the IFN- $\gamma$  expressions in the lamina propria of ileum's layer that vaccinated by Avian Influenza.

Keyword : Probiotic-*Chlorella*, ileum, Avian Influenza, interferon-gamma



## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul **Ekspresi IFN- $\gamma$  Pada *Ileum* Ayam Petelur Yang Divaksin Avian Influenza Dan Diberi Suplementasi Probiotik-*Chlorella***

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., Drh, atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Hj. Sri Subekti B.S., DEA., Drh, selaku pembimbing pertama dan Yeni Dhamayanti, M.Kes., Drh, selaku pembimbing kedua atas saran dan bimbingannya sampai selesainya skripsi ini.

Retno Sri Wahjuni, M.S., Drh, selaku dosen wali atas bimbingan dan nasihatnya selama ini.

Dr. Garry Cores de Vries, M.Sc., M.S., Drh., Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., Drh dan Jola Rahmahani, M.Kes., Drh selaku dosen penguji atas wawasan keilmuan yang diberikan.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.



Seluruh dosen dan staf di Laboratorium Anatomi Veteriner dan Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas ruang diskusi dan bantuan teknik dalam proses penelitian ini.

Bapakku Shodiq, SPd., dan ibuku Supiyah serta adikku Nofi Dwi Has Tuti yang tercinta atas segala do'a, pengorbanan, limpahan kasih sayang, dukungan dan nasihatnya selama ini. Keluarga besar Khaerun dan Samruri, terima kasih atas kehangatan kasihnya.

Teman sepenelitian Suryo Kuncorojakti, Linda Kurniadewi, Aprilia Hadi, Lufti Baskoro Timur, Diana Susanti, Riestiarta Adi, Danang, Novita, Raditya Wahyu, Rosetta dan Linawati atas pengertian, kekompakan, semangat, do'a dan kesabarannya. Sahabatku Arynta Widyaningrum, Freshinta Jellia Wibisono, Nurina Titisari, Putri Novita dan Dwi N.C atas persahabatan yang indah dan segala dukungannya selama ini. Teman-teman seangkatan 2003 atas kebersamaannya.

Teman-teman kos Anjar Sulistyorini, Sartika Wulandari, Nurul Syafietri, Mbak Bakti, Mbak Fierda, Mbak Tin, Mbak Gi, Mbak Wima dan Riska atas do'anya. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan makalah ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa makalah ini jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharap kritik dan saran dari pembimbing/penguji sebagai upaya penyempurnaan makalah ini. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan dan peningkatan kualitas peternakan di Indonesia pada khususnya





dan masyarakat luas pada umumnya. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya.

Surabaya, November 2007

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
HALAMAN IDENTITAS.....	iii
<i>ABSTRACT</i> .....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	2
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Landasan Teori.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
1.6 Hipotesis.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Ayam Petelur.....	8
2.1.1 Karakteristik ayam petelur.....	8
2.1.2 Anatomi dan fisiologi usus halus.....	9
2.2 Avian Influenza.....	10
2.2.1 Etiologi.....	10
2.2.2 Cara penularan.....	11
2.2.3 Gejala klinik.....	11
2.2.4 Diagnosis.....	12
2.2.5 Penanggulangan.....	13
2.3 Vaksinasi.....	13
2.4 Imunitas Pada Mukosa.....	14
2.5 Respon Imun Terhadap Infeksi Virus.....	15
2.6 Interferon Gamma.....	16
2.7 Ransum Untuk Ayam Petelur.....	19
2.8 Probiotik.....	20
2.9 <i>Chlorella</i> .....	22
BAB 3 MATERI DAN MITODE.....	26
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
3.2 Materi Penelitian.....	26
3.2.1 Hewan percobaan.....	26
3.2.2 Bahan penelitian.....	26



3.2.3 Alat penelitian.....	27
3.3 Metode Penelitian.....	28
3.3.1 Penentuan protein ransum.....	28
3.3.2 Penentuan pH suplemen.....	28
3.3.3 Pengacakan.....	29
3.3.4 Rancangan Percobaan.....	29
3.3.5 Perlakuan hewan coba.....	30
3.3.6 Variabel penelitian.....	30
3.4 Pembuatan Preparat dengan Metode Imunohistokimia.....	31
3.5 Proses Pengecatan.....	31
3.6 Pengamatan Penelitian.....	33
3.7 Analisis Data.....	34
3.8 Kerangka Operasional.....	35
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	36
BAB 5 PEMBAHASAN.....	44
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
6.1 Kesimpulan.....	47
6.2 Saran.....	47
RINGKASAN.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN.....	55



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 Analisis Umum <i>Chlorella</i> .....	23
Tabel 2 Kandungan Vitamin dan Mineral <i>Chlorella</i> .....	24
Tabel 3 Kandungan Asam Amino <i>Chlorella</i> .....	25
Tabel 3.1 Rancangan Percobaan.....	29
Tabel 4.1 Rata-rata dan simpangan baku ekspresi IFN- $\gamma$ pada lamina propria ileum ayam petelur dengan perlakuan ransum rendah protein dan basal protein.....	35
Tabel 4.2 Rata-rata dan simpangan baku ekspresi IFN- $\gamma$ pada lamina propria ileum ayam petelur dengan pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik- <i>Chlorella</i> .....	36
Tabel 4.3 Rata-rata dan simpangan baku ekspresi IFN- $\gamma$ pada lamina propria ileum ayam petelur dengan perlakuan ransum rendah dan basal protein yang diberi suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik- <i>Chlorella</i> .....	38





## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Skematik dari mukosa usus.....	15
Gambar 2 Monomer dari IFN- $\gamma$ .....	17
Gambar 3 Mekanisme interferon dalam mencegah replikasi virus.....	18
Gambar 4.1 Ekspresi IFN- $\gamma$ pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur dengan perlakuan kontrol rendah protein.....	40
Gambar 4.2 Ekspresi IFN- $\gamma$ pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur diberi perlakuan rendah protein dengan suplementasi Probiotik.....	41
Gambar 4.3 Ekspresi IFN- $\gamma$ pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur diberi perlakuan rendah protein dengan suplementasi Probiotik- <i>Chlorella</i> .....	41
Gambar 4.4 Ekspresi IFN- $\gamma$ pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur dengan perlakuan kontrol basal protein.....	42
Gambar 4.5 Ekspresi IFN- $\gamma$ pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur diberi perlakuan basal protein dengan suplementasi Probiotik.....	42
Gambar 4.6 Ekspresi IFN- $\gamma$ pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur diberi perlakuan basal protein dengan suplementasi Probiotik- <i>Chlorella</i> .....	43



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Analisa Pakan Komplit Butiran Ayam Petelur (Layer II) CP 524-2 PT Charoen Phokphand Indonesia.....	55
Lampiran 2 Hasil Analisis Mikrobiologi Pupuk Cair Defiton Produk PT. Sagarmatna Multi Karya.....	56
Lampiran 3 Perhitungan Penyusunan Ransum Rendah Protein Dengan Metode Bujur Sangkar <i>Pearsons</i> .....	57
Lampiran 4 Tabel Percobaan Perbandingan Kombinasi Probiotik- <i>Chlorella</i> Terhadap pH yang Dihasilkan.....	58
Lampiran 5 Hasil Perhitungan SPSS XII <i>for Windows</i> .....	59



## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

Antigen	: Bahan yang menyebabkan suatu tanggap kebal
APC (Antigen-presenting cell)	: Sel penyaji contohnya: makrofag dan sel dendrit.
CD4 <sup>+</sup>	: Subset sel T yang berperan membantu sel B untuk memproduksi antibodi.
CGF	: <i>Chlorella Growth Factor</i> , suatu senyawa yang dapat memicu proses proliferasi sel.
DNA	: <i>Deoxiribonucleic Acid</i>
Fc-R	: Reseptor pada permukaan sel yang mempunyai peran khusus pada bagian Fc dalam molekul antibodi. Reseptor Fc ditemukan pada banyak sel.
IFN- $\gamma$	: Kelompok protein dengan berat molekul rendah yang mempunyai kemampuan mencegah replikasi virus dan mengatur respon imun.
IgA	: Immunoglobulin yang berperan sebagai respon imun terhadap organisme patogen dalam usus, saluran pernafasan dan saluran urogenital.
IgG	: Immunoglobulin yang terdapat dalam serum dan cairan tubuh.
IgM	: Immunoglobulin yang berukuran paling besar yang berperan dalam respon imun terhadap infeksi bakteri dan parasit.
Klon	: Populasi sel atau organisme yang identik yang berasal dari suatu sel atau organisme pendahulu tunggal.
Komplemen	: Suatu protein yang terikat enzim yang diaktivasi oleh beberapa faktor terutama interaksi antigen-antibodi dan yang menyebabkan berbagai macam



	akibat biologis seperti lisisnya membran sel dan opsonisasi.
Limfokin	: Glikoprotein asal limfosit yang mengatur aktivitas sel yang lain sehingga membantu mengatur beberapa aspek respon imun.
Limfosit Th1	: Memberikan respon melalui proliferasi klon dan melepaskan limfokin.
Limfosit Th2	: Memberikan respon dengan mengeluarkan sejumlah limfokin yang berbeda yang membantu klon sel B, setelah berikatan dengan antigen virus, membelah dan berdeferensiasi menjadi sel plasma.
LTH (Limfosit-T Helper)	: Berperan dalam pengaktifan limfosit lain termasuk sel B, sel T dan makrofag.
MHC II	: Molekul dari Major Histocompatibility Complex yang berperan dalam mempresentasikan sel Th ( $CD4^+$ ).
Monokin	: Produk protein dari fagosit mononuklir yang mempengaruhi aktivitas populasi yang lain.
Ransum	: Penyediaan pangan atau pakan harian.
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
Sel B	: Berasal dari sumsum tulang berperan sebagai mediator imunitas humoral, yang mengalami transformasi menjadi sel plasma dan memproduksi antibodi.
Sel NK (Natural Killer)	: Sel limfoid yang mampu menghancurkan sel yang terinfeksi virus.
Sel T	: Limfosit yang berasal dari thymus.
Sitokin	: Merupakan mediator dalam sistem imun.





# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

BAB I

PENDAHULUAN

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Masalah

Budidaya ayam petelur berkembang pesat sejak tahun 1960-an. Awalnya beberapa jenis ayam disilangkan dan diseleksi dengan ketat hingga diperoleh ayam ras petelur yang dikenal sekarang ini (Abidin, 2003).

Budidaya ayam petelur di lapangan tidak mudah. Kesalahan manajemen pemeliharaan membawa dampak yang besar pada peternakan ayam tersebut. Ayam petelur mudah terserang penyakit. Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Amerika Serikat, setidaknya ada 97 jenis penyakit yang bisa menyerang ayam ras petelur sepanjang hidupnya (Abidin, 2003).

Penyakit influenza unggas (*Avian Influenza*) pertama kali dilaporkan pada tahun 1878 sebagai wabah yang menyerang ayam dan burung di Italia (Perroncito, 1878). Penyakit *Avian Influenza* adalah penyakit yang disebabkan oleh virus *influenza* tipe A dari Family *Orthomyxoviridae* (Patu, 2007). Laporan terakhir dari Hongkong pada tahun 1997 menyatakan bahwa *Avian Influenza* disebabkan oleh virus *influenza* subtype H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> yang menyerang ayam dan burung peliharaan. *Avian Influenza* juga menyebabkan kematian pada sejumlah pekerja atau orang yang pernah kontak dengan jenis unggas tersebut. Kejadian ini akan lebih mendukung arti penting *Avian Influenza* dalam kesehatan masyarakat sebagai penyakit yang berpotensi menular dari unggas atau hewan lain ke manusia (bersifat *zoonosis*) (Tabbu, 2000). Di Indonesia, wabah penyakit unggas terjadi sejak bulan Agustus



2003 dan menyerang ayam petelur, pedaging, burung puyuh serta burung unta maupun ayam buras. Wabah *Avian Influenza* ditandai dengan kematian mendadak dari hewan penderita (Wiyono dkk., 2004). Penyakit ini menimbulkan kematian yang sangat tinggi (hampir 90%) pada beberapa peternakan dan menyebabkan kerugian ekonomi yang besar bagi peternak (Patu, 2007). Tingkat morbiditas dan mortalitas pada penyakit ini sangat tinggi (Fenner *et al.*, 1995).

Vertebrata, termasuk ayam, mempunyai sistem pertahanan yang disebut respon imun sebagai kompensasi terhadap ancaman yang bersifat kontinuitas dari serangan mikroorganisme dan virus. Sistem imun melibatkan beberapa macam limfosit serta makrofag, sel dendritik dan sel NK (*Natural killer*) (Fenner *et al.*, 1995).

Khusus infeksi virus, ada mekanisme yang dapat mencegah penyebaran virus. Proses ini melibatkan aktivitas sekresi IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  merupakan protein yang mempunyai kemampuan mencegah replikasi virus (Tizard, 1987). Fungsi IFN- $\gamma$  adalah mengaktifkan makrofag dan meningkatkan ekspresi dari MHC II pada APC. Makrofag tersebut sifatnya menjadi lebih fagositik dan lebih cepat meningkatkan penyajian antigen (Dalhousie, 2007). IFN- $\gamma$  adalah suatu limfokin yang berasal dari sel T yang terstimulus oleh antigen. Interferon dapat meningkatkan aktivitas sel supresor maupun sel sitotoksik (Tizard, 1987). Interferon menginduksi ekspresi MHC II di sel jaringan, meningkatkan ekspresi Fc-R pada makrofag dan aktivasi sel NK (Baratawidjaja, 2006). Sel NK mempunyai kemampuan menghancurkan sel yang terinfeksi virus. Aktivitas Sel NK sangat meningkat oleh limfokin Interferon (Tizard, 1987).



Tabbu (2000) menyatakan sejauh ini *Avian Influenza* tidak dapat diobati, pemberian antibiotik atau antibakterial hanya ditujukan untuk mengobati infeksi sekunder oleh bakteri atau *Mycoplasma*. Salah satu metode untuk pencegahan dan pengendalian terhadap penyakit ini adalah program vaksinasi (FAO, 2005).

Probiotik adalah kultur satu atau lebih mikroorganisme hidup yang diberikan pada ternak melalui pakan untuk meningkatkan kesehatan ternak (Crawford, 1979). Probiotik menjaga kesehatan ternak dengan cara menyeimbangkan mikroba di dalam usus termasuk menghalangi kolonisasi bakteri patogen. Penggunaan Probiotik sebagai suplemen telah banyak dilaporkan oleh para peneliti, berbagai biakan mikroba antara lain seperti *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* menunjukkan pengaruh terhadap sistem imun misalnya sistem imun humoral, sistem imun seluler ataupun sistem imun non-spesifik (Erickson *et al.*, 2000).

*Chlorella* adalah ganggang hijau bersel satu dengan kandungan klorofil sangat tinggi (Suriawiria, 2002; Steenblock, 2000). *Chlorella* dilaporkan dapat mengurangi stress pada ayam karena dapat menurunkan kadar kortikosteroid (Hasegawa *et al.*, 2000). Sunoto (1994) menyatakan *Chlorella* mengandung suatu senyawa yang dapat memicu proses proliferasi sel pada hewan dan manusia, yaitu CGF (*Chlorella Growth Factor*). Dinding sel *Chlorella* mampu merangsang respon imun (Suriawiria, 2002). Steenblock (2000), melaporkan bahwa *Chlorella* menyebabkan kadar interferon lebih tinggi.





## 1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan diatas maka permasalahan yang dirumuskan dalam penelitian ini meliputi:

1. Apakah pemberian kadar protein dalam ransum yang berbeda berpengaruh terhadap sekresi IFN- $\gamma$  pada ayam petelur setelah divaksin *Avian Influenza*?
2. Apakah pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi antara Probiotik – *Chlorella* dalam ransum berpengaruh terhadap sekresi IFN- $\gamma$  pada ayam petelur setelah divaksin *Avian Influenza*?

## 1.3. Landasan Teori

Unggas merupakan salah satu spesies ternak yang mudah stres, baik stres karena lingkungan (temperatur, kenyamanan), stres pakan, stres penyakit, stres terhadap pola manajemen pemeliharaan dan sebagainya (Safitri, 2004). Stres dapat mengakibatkan penurunan pertumbuhan, respon imun, konversi pakan, fertilitas, daya tetas telur serta penurunan daya hidup unggas (Bains, 1996). Pakan tambahan yang diberikan dalam jumlah sedikit pada keadaan stres dapat meningkatkan pertumbuhan serta memperbaiki efisiensi pakan (Anggorodi, 1985). Keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan terganggu ketika ternak mengalami stres. Kondisi ini menyebabkan menurunnya sistem pertahanan tubuh dan bakteri patogen mempunyai kesempatan untuk berkembang dengan cepat. Pemberian Probiotik dapat menjaga keseimbangan komposisi mikroorganisme



dalam sistem pencernaan ternak sehingga dapat menjaga kesehatan ternak (Samadi, 2002).

Probiotik tergolong dalam makanan fungsional, dimana bahan makanan ini mengandung komponen yang dapat meningkatkan kesehatan ternak dengan cara memanipulasi komposisi bakteri yang ada dalam saluran pencernaan ternak. Probiotik juga meningkatkan respon imun dan mencegah alergi makanan (Samadi, 2002). Probiotik bertindak sebagai agen *Immunomodulator* dari respon imun pada unggas. Dengan demikian, Probiotik mempunyai potensi sebagai pencegah maupun kontrol berbagai jenis penyakit infeksius (Kostiuk *et al.*, 1992; Koenen *et al.*, 2004).

*Chlorella* adalah ganggang hijau dengan kandungan klorofil sangat tinggi (Suriawiria, 2002; Steenblock, 2000). Klorofil pada *Chlorella* mengandung lebih dari 50% protein. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa *Chlorella* menstimulasi makrofag, interferon dan produksi sel T sebagai efek dari anti tumor, anti bakteri dan anti viral. Steenblock (2000) menyatakan bahwa *Chlorella* mengandung arginin. Gas nitrogen oksida dihasilkan dari asam amino arginin oleh enzim *nitric oxide synthase* dalam sel dimana nitrogen oksida ini berperan dalam sistem imun dalam tubuh (Silalahi, 2005).

Suriawiria (2002) menyatakan bahwa dinding sel *Chlorella* dan beta-karoten yang terkandung dalam *Chlorella* mempunyai fungsi untuk merangsang makrofag, sedangkan CGF merangsang Limfosit-T Helper (LTH) dimana LTH akan menghasilkan zat-zat yang dapat merangsang makrofag dan sekresi interferon.



Penelitian ini menggunakan ayam petelur karena waktu waktu pemeliharaannya yang panjang dan ayam petelur sifatnya mudah mengalami stres. Di lapangan stres yang banyak terjadi disebabkan oleh beberapa faktor, termasuk kualitas pakan yang rendah. Kondisi seperti ini memungkinkan penularan penyakit. Salah satu penyebab penyakit adalah virus *Avian Influenza*. Pemberian suplementasi Probiotik dan *Chlorella* dalam ransum pada penelitian ini karena berpotensi memicu timbulnya respon imun. Probiotik dan *Chlorella* dicampurkan dalam ransum diasumsikan terjadi stimulasi pada imunitas mukosa saluran cerna terutama pada ileum.

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh kadar protein dalam ransum terhadap sekresi IFN- $\gamma$  setelah pemberian vaksin Avian Influenza pada ayam petelur.
2. Mengetahui pengaruh suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella* terhadap sekresi IFN- $\gamma$  setelah divaksin Avian Influenza pada ayam petelur.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada peternak ayam petelur khususnya dan pada industri peternakan serta masyarakat pada umumnya tentang manfaat Suplementasi Probiotik-*Chlorella* sebagai pakan tambahan yang dapat mengoptimalkan sistem imun pada unggas dalam upaya



pengecahan dan pengendalian virus *Avian Influenza*. Diasumsikan ada sinergisme yang positif antara pemberian suplemen Probiotik-*Chlorella* dengan program vaksinasi khususnya vaksin *Avian Influenza*.

### 1.6 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini meliputi:

1. Terdapat peningkatan sekresi IFN- $\gamma$  setelah pemberian vaksin AI dengan ransum basal protein pada ayam petelur.
2. Terdapat peningkatan sekresi IFN- $\gamma$  setelah pemberian vaksin AI dengan suplementasi Probiotik dan kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* pada ayam petelur.





## **BAB 2**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

BAR 2

PERPUSTAKAAN

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Ayam Petelur

#### 2.1.1. Karakteristik Ayam Petelur

Taksonomi zoologi ternak ayam di dunia hewan menurut Supriyatna dkk (2005) adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Aves
Subkelas	: Neornithes
Ordo	: Galliformes
Genus	: Gallus
Spesies	: <i>Gallus domesticus</i>

Ayam peliharaan (*Gallus domesticus*) merupakan keturunan dari ayam hutan. Sejak 5000 tahun yang lalu, manusia telah memelihara ayam tersebut. Saat ini jenis-jenis ayam banyak mengalami perubahan sifat, baik fisik maupun genetik. Dewasa ini banyak sekali ayam hasil perbaikan mutu genetik yang disesuaikan dengan tujuan pemeliharanya. Berdasarkan tujuan pemeliharaan, atau biasa disebut tipe ayam, ayam dapat dikelompokkan menjadi tipe petelur, pedaging dan medium atau dwiguna (*dual purpose*). Ayam tipe petelur memiliki karakteristik bersifat *nervous* atau mudah terkejut, bentuk tubuh ramping dan cuping telinga berwarna putih (Supriyatna dkk., 2005).



Strain ayam petelur yang kini beredar sangat banyak, Sudarmono (2003) mengatakan bahwa ayam ras petelur yang pernah beredar di Indonesia antara lain *Abor Acres* diciptakan di Amerika 1972, *Dekalb Waren* diciptakan di Amerika 1972, *Hyline* diciptakan di Amerika 1972, *Hubbard Golden Comet* diciptakan di Amerika 1972, *Kimber Brown* diciptakan di California Amerika, *Harco* diciptakan di Amerika 1972, *Shaver* diciptakan di Kanada, *Hisex* diciptakan di Belanda 1972, *Hypeco* diciptakan di Belanda 1972, *Rosella* diciptakan di Belanda, *Isa Brown* diciptakan di Inggris 1972, *Ross Brown* diciptakan di Inggris 1972, *Lohman* diciptakan di Jerman 1977, *Enya* diciptakan di Jepang.

Ayam ras petelur sangat peka terhadap perubahan lingkungan. Kemampuan adaptasi terhadap lingkungan lebih rendah bila dibandingkan dengan ayam kampung. Ayam ras petelur lebih mudah mengalami stres. Tuntutan hidup ayam ras petelur sangat tinggi, yaitu selalu menuntut pakan dalam jumlah dan kualitas yang tinggi, air minum yang cukup, dan menggantungkan diri sepenuhnya kepada peternak, sehingga ayam ras petelur tidak cocok bila ditenakkan secara ekstensif. Disisi lain ayam ras petelur memiliki sifat kanibalisme yang tinggi bila dibandingkan dengan ayam kampung (Sudarmono, 2003).

### 2.1.2. Anatomi dan Fisiologi Usus Halus

Usus halus pada unggas terdiri dari *duodenum*, *jejenum* dan *ileum*. Usus halus unggas relatif lebih pendek dibandingkan dengan mamalia dan memiliki diameter yang relatif sama di sepanjang lumennya. Bagian proksimal dari usus



halus memanjang membentuk alur huruf U disebut *duodenum*. *Duodenum* mudah diidentifikasi karena dijumpai organ pankreas diantara bentukan huruf U tersebut. Bagian distal *duodenum* adalah *jejenum* sedang bagian paling akhir adalah *ileum* (Bock *et al.*, 1989). Struktur makroskopis, anatomi *jejenum* dan *ileum* sulit dibedakan. Gunal *et al* (2006) mengatakan bahwa *Jejenum* adalah bagian usus halus yang dibatasi oleh *duodenum* dan *divertikulum Meckel's*.

Usus halus merupakan organ utama tempat berlangsungnya pencernaan dan absorpsi produk pencernaan. Berbagai enzim yang masuk kedalam saluran pencernaan ini berfungsi mempercepat dan mengefisiensikan pemecahan senyawa organik kompleks menjadi monomer yang lebih sederhana sehingga mudah diabsorpsi. Sepanjang permukaan usus halus terdapat banyak vili. Permukaan vili terdapat banyak sekali mikrovili yang berfungsi melakukan absorpsi hasil pencernaan (Supriyatna dkk, 2005).

## **2.2. Avian Influenza**

### **2.2.1. Etiologi**

*Avian Influenza* merupakan suatu penyakit viral pada unggas, terutama kalkun dan burung liar. Unggas yang terjangkit *Avian Influenza* menunjukkan gejala gangguan pernapasan, depresi dan penurunan konsumsi pakan dan minum, penurunan produksi telur dan penurunan daya tetas telur pada ayam bibit (Tabbu, 2000). *Avian Influenza* disebabkan oleh virus influenza yang tergolong famili *Orthomyxoviridae*, yang merupakan virus RNA dan mempunyai aktivitas *hemaglutinin* dan *neuramidase*. Virus influenza terdiri atas 3 tipe antigenik yang





berbeda yaitu A, B dan C. Virus influenza A ditemukan pada unggas, manusia, babi, kuda dan kadang-kadang pada mamalia lain sedangkan virus influenza B dan C hanya ditemukan pada manusia. Berdasarkan dari struktur antigen permukaan, yaitu *hemagglutinin* (H) dan *neuraminidase* (N), maka virus influenza A dikelompokkan lagi menjadi banyak subtipe. Dewasa ini dikenal 15 subtipe H dan 9 subtipe N (Tabbu, 2000). Influenza tipe A terdiri dari beberapa strain, antara lain H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>, H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> dan lain-lain. Influenza A (H<sub>5</sub>N<sub>1</sub>) merupakan penyebab wabah flu burung yang sangat mematikan di Hongkong, Vietnam, Thailand, Indonesia dan Jepang (Patu, 2007).

### 2.2.2. Cara Penularan

Tabbu (2000) mengemukakan bahwa penularan *Avian Influenza* dapat terjadi apabila ada kontak langsung antara ayam sakit dengan ayam yang peka. Ayam terinfeksi mengeluarkan virus dari saluran pernapasan, konjungtiva dan feses. Penularan juga dapat terjadi secara tidak langsung, misalnya melalui udara yang tercemar oleh material atau debu yang mengandung virus *Influenza* (aerosol); makanan atau minuman, alat atau perlengkapan peternakan, kandang, kurungan ayam, pakaian peternak, kendaraan, peti telur, egg trays, burung, mamalia dan insekta yang mengandung/tercemar virus *Influenza*.

### 2.2.3. Gejala Klinik

Masa inkubasi berkisar antara beberapa jam sampai 3 hari; masa inkubasi tersebut tergantung pada dosis virus, rute kontak dan spesies unggas yang



terserang. *Avian Influenza* dapat ditemukan dalam dua bentuk, yaitu bentuk akut (*Haighly Pathogenic Avian Influenza*, HPAI) dan bentuk ringan. Bentuk HPAI ditandai oleh adanya proses yang cepat disertai mortalitas yang tinggi, gangguan produksi telur (berhenti atau menurun secara drastis); gangguan pernapasan (batuk, bersin, ngorok), lakrimasi (leleran dari air mata) yang berlebihan; sinusitis; edema di daerah kepala dan muka; perdarahan jaringan subkutan yang diikuti oleh sianosis pada kulit, terutama di daerah kaki, kepala, dan pial; diare dan gangguan saraf. Gejala-gejala tersebut dapat ditemukan pada satu kasus tetapi dapat juga merupakan kombinasi dari berbagai kasus. Pada kasus tertentu, penyakit ini dapat berlangsung sangat cepat dan ayam dapat mati mendadak tanpa didahului oleh gejala tertentu (Tabbu, 2000).

*Avian Influenza* bentuk ringan yang tidak diikuti oleh infeksi sekunder, akan terlihat adanya penurunan atau produksi telur yang terhenti, gangguan pernapasan, anoreksia, depresi, sinusitis dan mortalitas rendah tapi cenderung meningkat. Apabila terdapat infeksi sekunder oleh bakteri atau ayam dalam keadaan stres akibat lingkungan, gejala klinik akan menjadi parah (Tabbu, 2000).

#### **2.2.4. Diagnosis**

Diagnosis definitif didasarkan atas isolasi, identifikasi virus, dan pemeriksaan serologi. Diagnosis sementara dapat didasarkan atas riwayat kasus, gejala klinik, perubahan patologis dan tidak adanya penyakit pernapasan lain. Isolasi virus dapat dilakukan pada telur bertunas umur 10 – 11 hari menggunakan



jaringan trakea atau kloaka dari unggas yang mati ataupun hidup karena virus Influenza berreplikasi di dalam saluran respirasi dan pencernaan (Tabbu, 2000).

### 2.2.5. Penanggulangan

Tabbu (2000) menyatakan sejauh ini *Avian Influenza* tidak dapat diobati, pemberian antibiotik atau antibakterial hanya ditujukan untuk mengobati infeksi sekunder oleh bakteri atau *Mycoplasma*. Pencegahan yang dilakukan dalam rangka untuk mengendalikan penyakit ini antara lain dengan cara pengkarantinaan peternakan yang terserang dan yang berhubungan dengannya, pemusnahan semua unggas yang terinfeksi virus dan pembuangan unggas secara baik merupakan cara yang baku untuk mencegah perubahan secara lateral ke peternakan yang lain. Vaksinasi dapat juga dijadikan sebagai upaya pendukung untuk memberantas wabah di daerah non-endemik (Mohamad, 2007).

### 2.3. Vaksinasi

Vaksinasi dapat didefinisikan sebagai suatu kegiatan memasukkan suatu bibit penyakit (mikroorganisme) tertentu yang telah dilemahkan ke dalam tubuh ternak dalam rangka menimbulkan kekebalan tubuh terhadap penyakit tertentu. Sementara yang dimaksud dengan vaksin adalah suatu produk yang mengandung sejumlah organisme (bibit penyakit) yang telah dilemahkan. Vaksin dapat mengandung mikroorganisme yang telah mati (*Killed-virus*) atau masih hidup (*Live-virus*). Kemampuan *live-virus* untuk menumbuhkan daya tahan tubuh lebih tinggi dibandingkan *killed-virus* karena virus tersebut akan tumbuh dan



berkembangbiak dalam tubuh unggas. Sementara kekuatan *killed-virus* untuk merangsang produksi antibodi unggas tergantung pada antigenik (sel-sel vitus) yang terkandung di dalam dosis vaksin (Supriyatna dkk, 2005).

Vaksinasi dilakukan dengan tujuan memberikan kekebalan pada tubuh ayam yang divaksinasi dari serangan penyakit (Sudarmono, 2003). Imunitas (kekebalan) yang optimal akan diperoleh bila vaksinasi diberikan pada kondisi yang optimal. Kondisi ini terjadi bila vaksin ditangani, disimpan dan digunakan secara benar, ayam yang divaksin dalam keadaan sehat, pakan tersedia cukup dan terbebas dari parasit, serta kondisi lingkungan di dalam kandang baik (Supriyatna dkk, 2005).

#### 2.4. Imunitas Pada Mukosa

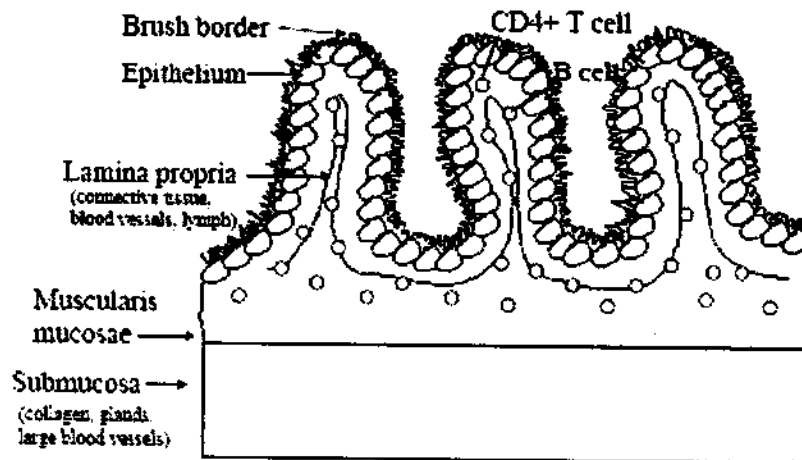
Imunitas pada mukosa adalah gabungan dari jaringan, limfoid, sel dan molekul yang berperan dalam respon imun terhadap infeksi pada permukaan membran mukosa. Seperti halnya kulit, mukosa epitelia merupakan barrier antara lingkungan internal dan eksternal yang mencegah infeksi mikroba. Pada saluran gastrointestinal, limfosit ditemukan tersebar di lamina propria dan *Peyer's patches*. Sebagian besar limfosit yang ada di intra epitel adalah sel T. Di dalam lamina propria terdiri dari bermacam-macam populasi sel. Sel tersebut meliputi, limfosit T yang mana kebanyakan adalah CD4<sup>+</sup> dan mempunyai fenotip aktivasi sel (Abbas *et al.*, 2003).

Sistem imunitas pada mukosa terdiri dari jaringan limfoid, yang paling utama adalah *peyer's patches* pada usus halus. Beberapa sel epitel yang melapisi





*peyer's patches* adalah sel M (*membranous*). Sel M mentransport makro molekul dari lumen usus ke jaringan subepitelial yang mana berperan sebagai pengantar antigen ke *peyer's patches* (Abbas *et al.*, 2003).



**Gambar 1** Gambar skematik dari mukosa usus (Petzke, 2007)

Sumber: [http://www.brown.edu/Courses/Bio\\_160/handouts/feb23.pdf](http://www.brown.edu/Courses/Bio_160/handouts/feb23.pdf)

## 2.5. Respon Imun Terhadap Infeksi Virus

Respon imun pada unggas bekerja secara umum seperti respon imun pada mamalia. Stimulasi antigen menginduksi respon imun yang dilakukan sistem seluler secara bersama-sama diperankan oleh makrofag, limfosit B dan limfosit T (Samsi, 2007).

Segera setelah infeksi oleh virus, beberapa partikel virus difagositosis oleh makrofag. Protein virus dipecah menjadi peptida. Limfosit T mengeluarkan subsetnya yaitu  $CD4^+$ , untuk mengenal antigen virus bekerjasama dengan *Major Hystocompatibility Complex* (MHC) kelas II. Limfosit Th1 memberikan respon melalui proliferasi klon dan melepaskan limfokin. Limfosit Th2 memberikan respon dengan mengeluarkan sejumlah limfokin yang berbeda yaitu IL-4, IL-5



dan IL-6, yang membantu klon sel B, setelah berikatan dengan antigen virus, membelah dan berdeferensiasi menjadi sel plasma. Respon Tc umumnya mencapai puncak sekitar satu minggu setelah infeksi. Aktivitas sel NK mencapai maksimum dalam dua hari dan aktivitas interferon mencapai puncak bersama dengan titer virus (Tizard, 1987).

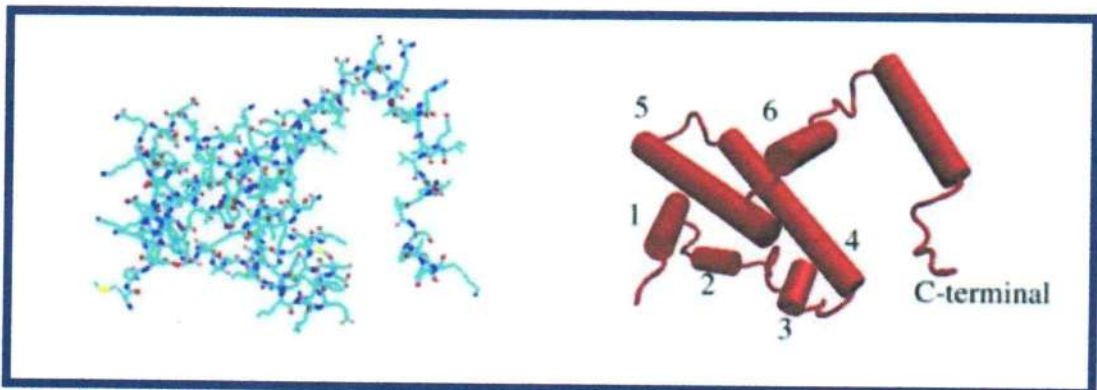
Sintesis antibodi berlangsung terutama di limpa, jaringan limfoid terkait usus dan jaringan limfoid terkait bronkus. Limpa menerima antigen virus melalui darah atau limfatika dan mensintesis antibodi yang terbatas terutama untuk kelas IgM pada awal respon dan subkelas IgG pada tahap berikutnya. Sebaliknya, jaringan limfoid sub-mukosa dari saluran pencernaan, seperti tonsil dan *Peyer's patches* menerima antigen secara langsung dari sel epitel di atasnya dan mereka menghasilkan antibodi utamanya dari IgA (Tizard, 1987).

## 2.6. Interferon

Interferon merupakan glikoprotein dengan berat molekul yang bervariasi, umumnya antara 20.000 dan 34.000 dalton (Tizard, 1987). Baratawidjaja (2006) menyatakan bahwa interferon adalah glikoprotein yang dibentuk berbagai sel dalam tubuh yang mengandung nukleus sebagai respon terhadap infeksi. Ada tiga jenis interferon yaitu IFN- $\alpha$  yang diproduksi oleh leukosit, IFN- $\beta$  oleh sel fibroblas serta IFN- $\gamma$  oleh sel T, sel NK dan makrofag. Ketiganya berperan dalam sistem imun. Interferon akan menginduksi sel di sekitar sel terinfeksi sehingga menjadi resisten. Sel yang terinfeksi akan menunjukkan perubahan pada permukaan sel sehingga dapat dikenali oleh sel NK yang kemudian



membunuhnya. Makrofag dapat diaktifkan oleh *Macrophage Activating Factor* (MAF) yang dilepas oleh sel T dan dapat melepas komplemen, interferon dan monokin (Baratawidjaja, 2006). Makrofag menginduksi IL-12 yang dapat merangsang sel NK dan sel T untuk memicu produksi IFN- $\gamma$  (Abbas *et al.*, 2000).

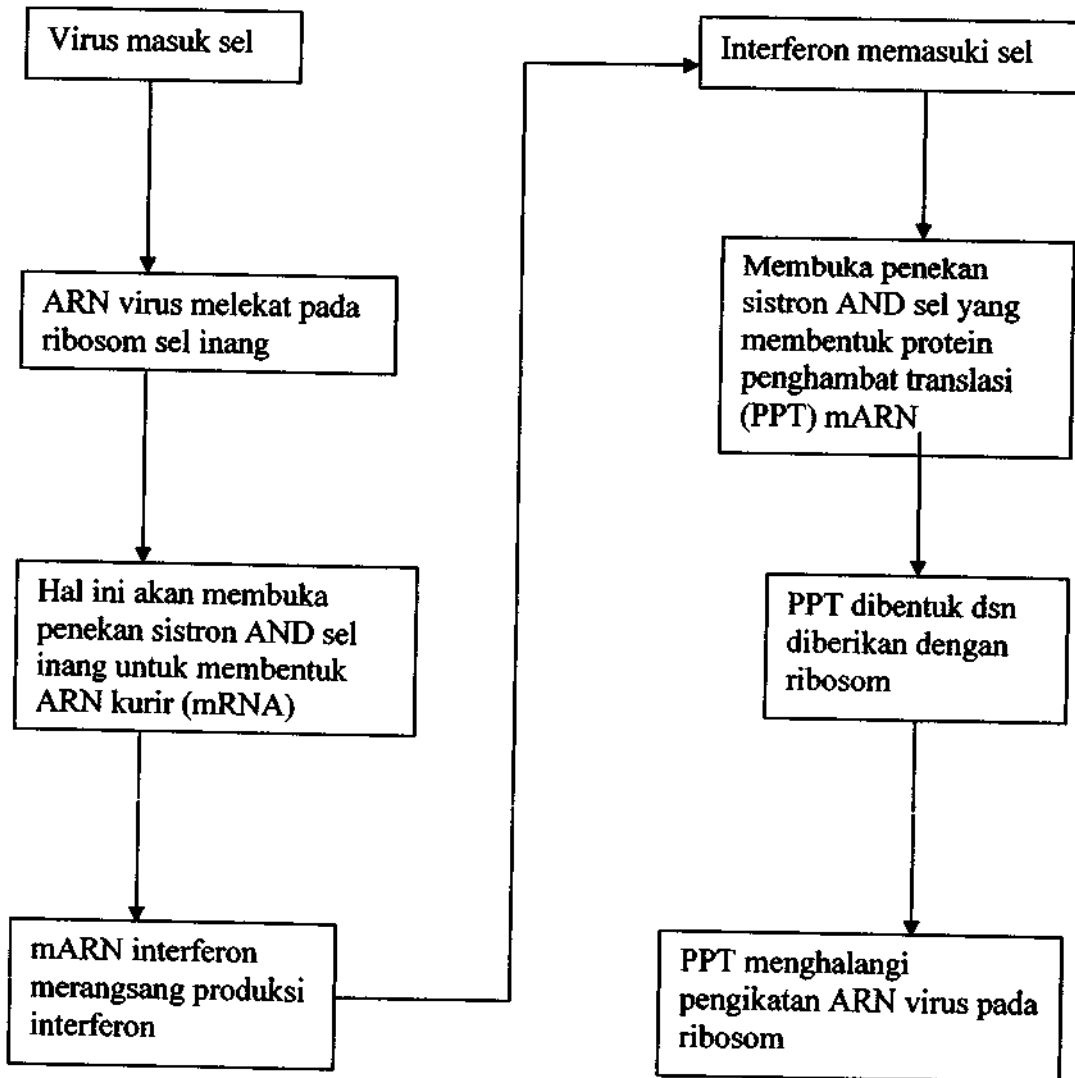


**Gambar 2** Monomer dari IFN- $\gamma$  terdiri satu inti dari 6  $\alpha$ -helik dan rantai panjang di C-terminal.  $\alpha$ -helik di dalam inti dari struktur adalah no. 1 – 6.

Sumber: <http://en.wikipedia.org/wiki/image:IFN2.jpeg.2007>

IFN- $\gamma$  yang disekresi oleh berbagai sel dari sistem imun merupakan sitokin utama *Macrophage Activating Cytokines* dan berperan dalam imunitas non-spesifik dan spesifik selular. IFN- $\gamma$  merangsang ekspresi MHC I dan MHC II dan kostimulator APC. IFN- $\gamma$  meningkatkan diferensiasi sel CD4<sup>+</sup> ke subset sel Th1 dan mencegah proliferasi sel Th2. IFN- $\gamma$  mengaktifkan neutrofil dan merangsang efek sitolitik sel NK (Baratawidjaja, 2006). Sel NK mempunyai kemampuan menghancurkan sel yang terinfeksi oleh virus. Aktivitas Sel NK sangat meningkat oleh limfokin Interferon (Tizard, 1989). IFN- $\gamma$  mengaktifkan fagosit dan APC (Baratawidjaja, 2006).





**Gambar 3 Mekanisme interferon dalam mencegah replikasi virus**

Sumber: Tizard, 1987.





## 2.7. Ransum Untuk Ayam Petelur

Pakan merupakan bahan makanan yang berasal dari tumbuhan, hewan ataupun bahan lain yang diberikan kepada ternak. Pakan tersebut diberikan kepada ternak dalam bentuk ransum. Ransum adalah susunan dari beberapa bahan pakan dengan perbandingan tertentu sehingga dapat memenuhi kebutuhan gizi ternak. Jadi dengan mencampurkan beberapa jenis bahan pakan, diharapkan kandungan gizi ransum sesuai dengan kebutuhan gizi ayam sehingga ayam dapat memproduksi secara optimal (Sudarmono, 2003).

Dalam penyusunan ransum perlu diperhatikan zat – zat makanan yang sesuai dengan kebutuhan ayam tersebut. zat makanan adalah sejumlah nutrien yang dibutuhkan oleh hewan, baik untuk hidup pokok maupun untuk produksi. Kebutuhan zat makanan ini tergantung pada species, umur, bobot badan dan status faali (National Research Council, 1989). Zat makanan merupakan substansi yang diperoleh dari bahan pakan yang dapat digunakan ternak bila tersedia dalam bentuk yang telah siap digunakan oleh sel, organ dan jaringan. Zat makanan tersebut dapat dibagi menjadi enam kelas yaitu karbohidrat, lemak, protein, mineral, vitamin dan air. Protein merupakan bagian yang terpenting dalam penyusunan ransum. Protein adalah senyawa organik kompleks yang mengandung unsur karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, fosfor dan sulfur. Protein tersusun atas lebih dari dua puluh persenyawaan organik yang disebut asam amino. Satu molekul protein tersusun atas ikatan panjang beberapa asam amino yang disebut ikatan peptida. Protein diperlukan sebagai material pembentukan jaringan dan



produk (telur). Protein juga merupakan sumber energi meskipun bukan yang utama karena memerlukan proses yang kompleks (Supriyatna dkk, 2005).

Kualitas pakan sangat menentukan berapa banyak zat makanan yang dapat dicerna dan dimetabolisme. Semakin baik kualitas pakan maka hewan akan mengkonsumsi secukupnya karena adanya mekanisme kontrol secara kimia sebagai indikator tercukupi nutrisi di dalam tubuh. Bila kualitas pakan jelek maka hewan akan mengalami defisiensi salah satu nutrisi. Pada kasus defisiensi protein, maka akan terjadi penurunan respon imun hewan terhadap bakteri, virus dan jamur karena kurangnya zat antibodi (National Research Council, 1989).

Gheng Zou dan Wu (2005) melaporkan bahwa protein memiliki pengaruh yang signifikan pada produksi telur, berat telur, dan konversi pakan. Sementara Bunchasak *et al.* (2005) juga melaporkan ayam petelur yang diberikan ransum dengan kandungan protein kasar 14% menurunkan performa produksi dari pada ayam petelur dan memperlihatkan perbedaan yang signifikan bila dibandingkan dengan ayam yang diberi ransum dengan kandungan protein kasar 16% dan 18%.

## **2.8. Probiotik**

Kata Probiotik berasal dari bahasa Yunani yang artinya adalah "untuk hidup" dan pertama kali istilah probiotik digunakan oleh Lilley dan Stillwell pada tahun 1965 untuk menjelaskan substansi yang dihasilkan oleh suatu organisme yang merangsang pertumbuhan organisme lain (Gunawan dkk., 2003). Crawford (1979) menyatakan bahwa Probiotik adalah kultur dari suatu mikroorganisme hidup yang dimasukkan pada ternak melalui pencampuran dalam ransum untuk



menjamin ketersediaan populasi bagi organisme di dalam usus. Probiotik diberikan sebagai suplemen pakan, memberikan keuntungan bagi induk semang dengan cara memperbaiki keseimbangan populasi mikroba usus (Fuller, 1989). Leeson *et al.* (2000) menyatakan bahwa Probiotik diklasifikasikan dalam dua tipe, yaitu kultur mikrobial hidup, sebagai contoh adalah Probiotik starbio dan produk mikrobial fermentasi, contohnya adalah kultur *yeast (Saccharomyces cerevisiae)*, *Aspergillus niger*, *A. Oryzae* dan *Lactobacillus acidophilus*.

Probiotik yang digunakan sebagai aditif adalah tergolong bakteri yang termasuk dalam species *Lactobacillus (L. acidophilus, L. lactis, L. plantarum)* dan *Bifidobacterium (B. bifidum, B. thermophilum)*, di samping itu terdapat juga bakteri *Streptococcus lactis* dan jenis fungi seperti *Aspergillus niger, Aspergillus oryzae*. Prinsip kerja dari probiotik adalah bekerja secara anaerob dan menghasilkan asam laktat sehingga mengakibatkan turunnya pH saluran pencernaan yang menghalangi perkembangan maupun pertumbuhan bakteri-bakteri patogen. Berbeda dengan bakteri patogen (*Escherichia coli*) yang terdapat di dinding pencernaan untuk menimbulkan penyakit, bakteri-bakteri probiotik mendiami mukosa pencernaan yang juga berakibat perubahan komposisi dari bakteri yang terdapat dalam saluran pencernaan. Probiotik juga dapat meningkatkan kekebalan (*immunity*), mencegah alergi makanan dan kanker (*colon cancer*) (Samadi, 2002). Probiotik dapat menghalangi bakteri patogen di sistem gastrointestinal (Pascual *et al.*, 1999) dan menstimulasi respon imun (Quéré dan Girard, 1999).



## 2.9. *Chlorella*

Menurut Fairchild *et al* (1998) klasifikasi dari *Chlorella* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plant
Filum	: Chlorophycota
Klas	: Chlorophyceae
Ordo	: Chlorococcales
Family	: Oocytaxeae
Genus	: <i>Chlorella</i>
Spesies	: <i>C. vulgaris</i> , <i>C. Pyrenoidosa</i> , <i>C. simplex</i> , <i>C. acuminata</i> , <i>C. faginea</i> , <i>C. conductrix</i> , <i>C. variegata</i> , <i>C. prothecoides</i> , <i>C. ellipsoides</i> , <i>C conglomerata</i> , <i>C. Parasitica</i> .

Nama *Chlorella* diambil dari bahasa Yunani "*chloros*" yang berarti hijau dan "*ella*" yang berarti kecil. *Chlorella* merupakan genus dari ganggang hijau yang dimasukkan dalam filum *Chlorophyta*. Bentuk *spheric* dan tidak berflagella (Wikipedia, 2007). Menurut Suriawiria (2002) dan Steenblock (2000), *Chlorella* merupakan ganggang hijau bersel tunggal yang hidup berkoloni atau berkelompok, berbentuk bulat lonjong bergaris tengah 2 - 8  $\mu\text{m}$ , mempunyai inti dan tidak mempunyai akar dan batang sebenarnya. Nama *Chlorella* diberikan karena kandungan klorofilnya yang sangat tinggi. Jensen (1987) melaporkan bahwa *Chlorella* ditemukan oleh seorang sarjana mikrobiologi berkebangsaan Belanda yang bernama Beyerink.





*Chlorella* dapat dijumpai pada permukaan air laut, pada sedimen - sedimen di dasar laut, permukaan batu karang, di bawah permukaan kulit kayu atau kulit organisme yang lain, atau bahkan pada permukaan salju. Jenis tanaman bersel tunggal ini dapat hidup pada habitat yang berkadar garam mulai dari 0 hingga 35 ppt (Starr, 1995). Disamping mengandung klorofil yang tinggi, *Chlorella* juga mengandung vitamin, mineral, serat makanan, asam nukleat, asam amino, enzim, dan CGF (*Chlorella Growth Factor*). Sekitar 60% kandungan gizi *Chlorella* terdiri dari protein dan sekitar 20% karbohidrat dan lemak (Steenblock, 2000).

**Tabel 1. Analisis Umum *Chlorella***

<b>Kandungan</b>	<b>Persentase</b>
Air	3,6
Protein	60,5
Lemak	11,0
Karbohidrat	20,1
Serat Makanan	0,2
Abu	4,6
Kalori	421 Kcal/100 g

Sumber : Steenblock (2000)



**Tabel 2. Kandungan Vitamin dan Mineral *Chlorella***

<b>Kandungan</b>	<b>Mg/100 gram</b>
Vitamin A (aktivitas)	55.500,0 IU/100g
B-Karotena	180,8
Klorofil a	1.469,0
Klorofil b	613,0
Tiamin (Vit. B <sub>1</sub> )	3,1
Riboflavin (Vit. B <sub>2</sub> )	4,8
Vitamin B <sub>6</sub>	1,7
Vitamin B <sub>12</sub>	125,9
Vitamin C	12,4
Vitamin E	<1,0 IU/100g
Niasin	23,8
Asam Pantotenat	1,3
Asam folat	26,9
Biolin	191,6
PABA	0,6
Inositol	165,0
Kalsium (Ca)	203,0
Fosfor (P)	989,0
Iodium (J)	600,0
Magnesium (Mg)	315,0
Besi (Fe)	167,0
Seng (Zn)	71,0
Tembaga (Cu)	0,08

Sumber : Steenblock (2000)



**Tabel 3. Kandungan Asam Amino *Chlorella***

<b>Asam Amino</b>	<b>Persentase</b>
Alanin	4,80
Arginin	3,64
Asam aspartik	5,20
Glisin	3,40
Asam glutamat	6,29
Histidin	1,29
Isoleusin	2,63
Leusin	5,26
Methionin	1,45
Phenilalanin	3,08
Prolin	2,93
Serin	2,78
Threonin	2,70
Triptopan	0,59
Valin	3,64
Ornitin	0,06
Tirosin	2,09
Sistin	0,38

Sumber : Steenblock (2000)

Keistimewaan *Chlorella* adalah (1) kandungan klorofil yang lebih tinggi dibandingkan dengan tumbuhan lain (2) dinding sel yang mampu merangsang kekebalan tubuh (3) kadar protein lebih dari 53%, tertinggi dibandingkan makhluk hidup lain, serta (4) adanya *Chlorella Growth Factor* (CGF) yang bersifat khusus dan hanya ada dalam *Chlorella* (Suriwiria, 2002). *Chlorella Growth Factor* (CGF) ditemukan tahun 1957. CGF terkonsentrasi di dalam substansi genetik dan merupakan kompleks nukleopeptida yang mengandung belerang dan enam molekul gula. Penyusun peptidanya adalah asam amino, asam glutamat, alanin, prolin dan aspargin. Sedangkan jenis molekul gulanya adalah manosa, rhamnosa, arabinosa dan silosa (Steenblock, 2000). Jensen (1987) melaporkan bahwa pemakaian CGF ini juga dapat merangsang pertumbuhan dan perbaikan jaringan.



## **BAB 3**

# **MATERI DAN METODE**

BAR 3

MATERI DAN METODE



## BAB 3 MATERI DAN METODE

### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dimulai 9 April sampai dengan 3 Juni 2007 di Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penimbangan pakan dilakukan di Laboratorium Anatomi, dan Pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

### 3.2. Materi Penelitian

#### 3.2.1. Hewan percobaan

Hewan coba penelitian berupa 42 ekor Ayam Petelur strain *Lohman* dari P.T. Adiguna Bintang Lestari Pandaan yang berumur 16 minggu dengan rata-rata berat badan 1,4 Kg.

#### 3.2.2. Bahan penelitian

Bahan penelitian yang diperlukan pada penelitian ini berupa disinfektan kandang Rodalon dari P.T. Pyridam Veteriner, vaksin *Avian influenza* inaktif *subtype* H<sub>5</sub> dari P.T. Medion.

Pakan jadi menggunakan ransum Komplit Butiran Ayam Petelur (Layer II) CP 524-2 produksi P.T. Charoen Pokphand Indonesia dengan kandungan protein kasar 18–19%, kandungan pakan lain dan bahan ransum dapat dilihat pada lampiran 1. Pakan jadi inilah yang digunakan sebagai pakan basal, yaitu pakan



yang telah memenuhi standart kebutuhan nutrisi ayam khususnya pada fase petelur.

Suplemen yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi Probiotik-*Chlorella*. *Chlorella* dalam bentuk biakan murni diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau desa Pecaron Kabupaten Situbondo. *Chlorella* yang diperoleh dari Balai dalam bentuk cair. Probiotik yang digunakan adalah probiotik multistrain (hasil analisis mikrobiologi dapat dilihat pada lampiran 2) berasal dari P.T. Sagarmatna Multi Karya dengan merek dagang "Defiton".

Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat imunohistokimia adalah Xylol, poly L-lysine, Alkohol absolut, Alkohol 96%, Alkohol 80%, Alkohol 70%, PBS (10%), Trypsin 0,025%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, PBS, Antibodi primer, diluent AB 5%, Biotinylated link (yellow) drops, Streptavidin (red) drops, DAB (3,3 – diamino benzidine) chromogen, Aquades, Hematoxillin, Air, Amoniak air, Dipping aquades, Entelan, Canada Balsam / DAKO® Faramount dan *ileum*.

### 3.2.3 Alat penelitian

Alat penelitian yang digunakan adalah timbangan digital, kantong plastik, kertas pH meter, kandang baterai lengkap dengan tempat pakan dan minum.

Alat yang digunakan pada pembuatan dan pemeriksaan histologi antara lain gunting, pinset, scalpel, alat seksi, pot plastik, gelas objek dan gelas penutup, mikrotome knife, hot plate, tisu, mikroskop, alat dokumentasi dan minyak emersi.



### 3.3. Metode Penelitian

#### 3.3.1. Penentuan protein ransum

Pakan rendah protein adalah pakan yang memiliki kandungan protein <18% yang kurang memenuhi kebutuhan protein ayam dan dapat menyebabkan defisiensi protein. Penentuan ransum rendah protein yang digunakan dalam penelitian menggunakan metode penyusunan ransum bujur sangkar *Pearsons* (Perhitungan penyusunan ransum rendah protein dapat dilihat pada lampiran 3). Kandungan protein kasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah  $\pm 13\%$  sehingga diperoleh ransum rendah protein yaitu 14%. Untuk mendapatkan ransum rendah protein dilakukan penambahan dedak padi pada pakan jadi dengan perbandingan, pakan jadi dibanding dedak padi sebesar 1 : 4.

#### 3.3.2. Penentuan pH suplemen

Penentuan pH suplemen dilakukan dengan cara “coba – coba” (*Trial and Error*). Penentuan dosis Probiotik dan *Chlorella* dilakukan dengan cara mencampur kombinasi keduanya sehingga diperoleh pH yang sesuai yaitu 6. Indikator penentuan pH menggunakan kertas pH meter (Beberapa perbandingan kombinasi Probiotik-*Chlorella* terhadap pH yang dihasilkan dapat dilihat pada lampiran 4). Jadi untuk mendapatkan pH 6 dilakukan pencampuran kombinasi Probiotik-*Chlorella* dengan perbandingan 2,5 : 3.



### 3.3.3. Pengacakan

Hewan coba diundi secara acak untuk ditempatkan dalam kandang perlakuan yang dibagi menjadi enam perlakuan dengan tujuh kali ulangan.

### 3.3.4. Rancangan percobaan

Penelitian ini mempunyai tipe perancangan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 unit perlakuan. Setiap unit perlakuan diulang sebanyak 7 kali ulangan.

**Tabel 3.1 Rancangan Percobaan**

Ulangan Perlakuan	1	2	3	4	5	6	7
BP-K	BP-K <sub>1</sub>	BP-K <sub>2</sub>	BP-K <sub>3</sub>	BP-K <sub>4</sub>	BP-K <sub>5</sub>	BP-K <sub>6</sub>	BP-K <sub>7</sub>
RP-K	RP-K <sub>1</sub>	RP-K <sub>2</sub>	RP-K <sub>3</sub>	RP-K <sub>4</sub>	RP-K <sub>5</sub>	RP-K <sub>6</sub>	RP-K <sub>7</sub>
BP-P	BP-P <sub>1</sub>	BP-P <sub>2</sub>	BP-P <sub>3</sub>	BP-P <sub>4</sub>	BP-P <sub>5</sub>	BP-P <sub>6</sub>	BP-P <sub>7</sub>
BP-PC	BP-PC <sub>1</sub>	BP-PC <sub>2</sub>	BP-PC <sub>3</sub>	BP-PC <sub>4</sub>	BP-PC <sub>5</sub>	BP-PC <sub>6</sub>	BP-PC <sub>7</sub>
RP-P	RP-P <sub>1</sub>	RP-P <sub>2</sub>	RP-P <sub>3</sub>	RP-P <sub>4</sub>	RP-P <sub>5</sub>	RP-P <sub>6</sub>	RP-P <sub>7</sub>
RP-PC	RP-PC <sub>1</sub>	RP-PC <sub>2</sub>	RP-PC <sub>3</sub>	RP-PC <sub>4</sub>	RP-PC <sub>5</sub>	RP-PC <sub>6</sub>	RP-PC <sub>7</sub>

Keterangan:

BP-K : Hewan coba yang mendapat ransum basal protein (kandungan protein kasar 18%) tanpa mendapat suplementasi.

BP-P : Hewan coba yang mendapat ransum basal protein dengan penambahan Probiotik.

BP-PC : Hewan coba yang mendapat ransum basal protein dengan penambahan kombinasi Probiotik-*Chlorella*.

RP-K : Hewan coba yang mendapat ransum rendah protein (kandungan protein kasar  $\pm 14\%$ ) tanpa mendapat suplementasi.





RP-P : Hewan coba yang mendapat ransum rendah protein dengan penambahan Probiotik.

RP-PC : Hewan coba yang mendapat ransum rendah protein dengan penambahan kombinasi Probiotik-*Chlorella*.

### 3.3.5. Perlakuan hewan coba

Ayam yang baru datang diberi air gula selanjutnya dipelihara untuk adaptasi selama satu minggu. Pada hari ke delapan hingga akhir penelitian (minggu ke-8 penelitian), hewan coba diberi perlakuan. Pemberian pakan dan air minum secara *ad libitum*. Satu minggu setelah perlakuan dimulai (minggu ke-3 penelitian), ayam divaksinasi dengan vaksin *Avian influenza*. Dua minggu setelah vaksinasi pertama dilakukan vaksinasi booster I dan dua minggu setelah vaksinasi booster I dilanjutkan dengan vaksinasi booster II.

### 3.3.6. Variabel penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbedaan bahan suplementasi yaitu Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella*. Dimana ada perbedaan keasaman pada kedua bahan penelitian. Probiotik mempunyai pH = 3, sedangkan pH Probiotik-*Chlorella* adalah 6.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah sekresi IFN- $\gamma$  yang diekspresikan oleh ileum. Lebih lanjut, IFN- $\gamma$  yang dilihat adalah IFN- $\gamma$  yang ada pada lamina propria dari ileum. Adapun strain ayam dan umur ayam bertindak sebagai variabel kendali.



### 3.4. Pembuatan Preparat dengan Metode Imunohistokimia

*Ileum* diperoleh dengan memotong usus halus  $\pm 10$  cm sebelum *colon*. *Ileum* difiksasi dalam buffer formalin untuk mencegah degenerasi dan mempermudah pemotongan. Proses selanjutnya berturut-turut *ileum* dilakukan pemblokingan. *Ileum* yang telah dicetak, dipotong dengan *microtome knife* lalu dicuci dalam *water bath*.

Metode imunohistokimia merupakan gabungan dari histologi dan imunologi. Imunohistokimia adalah suatu metode pewarnaan substansi atau bahan aktif di dalam jaringan dengan menggunakan prinsip-prinsip dasar imunologi yaitu pengikatan bahan aktif (antigen) pada sisi aktif yang spesifik oleh suatu anti-bahan aktif tersebut yang disebut antibodi. Hasil reaksi antigen dan antibodi ini dapat diidentifikasi pada spesimen karena antibodi diikat oleh suatu penanda yang dapat divisualisasikan sehingga dapat menandai keberadaan bahan aktif tersebut dalam jaringan.

### 3.5. Proses Pengecatan Imunohistokimia

Gelas objek perlu dilapisi poly L-lysine sebelum jaringan dilekatkan kemudian dikeringkan pada hotplate.

#### 1. Deparafinisasi

- a. Xylol I, II dan III masing-masing didiamkan selama 10 menit
- b. Alkohol absolut I dan II masing-masing didiamkan selama 3 menit
- c. Alkohol 96 % I dan II masing-masing didiamkan selama 3 menit
- d. Alkohol 80 %, didiamkan selama 3 menit



e. Alkohol 70 %, didiamkan selama 1 menit

## 2. Digesti proteolitik

a. Menggunakan Trypsin 0,025 % dalam inkubator dengan temperatur 37° C selama 15 menit.

## 3. Staining Protokol

a. PBS ( 10 % ) 2 kali masing-masing didiamkan selama 5 menit

b. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 %, didiamkan selama 10 menit

c. PBS 2 kali masing-masing didiamkan selama 5 menit

d. Antibodi primer diencerkan dengan diluent AB 5 % diteteskan pada jaringan selama 45 – 60 menit

e. PBS 2 kali masing-masing didiamkan 5 menit

f. Biotinylated link ( yellow ) drops, didiamkan selama 30 menit

g. PBS 2 kali masing-masing didiamkan selama 5 menit

h. Streptavidin ( red ) drops, didiamkan selama 30 menit

i. PBS 2 kali masing-masing didiamkan selama 5 menit

j. DAB ( 3,3 – di amino benzidine ) chromogen, didiamkan selama 6 – 10 menit ( diencerkan dengan diluent 2 % )

k. PBS, didiamkan selama 5 menit

l. Aquades, didiamkan selama 5 menit

## 4. Counterstain

a. Hematoxillin, didiamkan selama 5 – 15 menit

b. Air mengalir, didiamkan selama 5 menit

c. Amoniak air, didiamkan selama 3 menit



- d. Dipping aquades, didiamkan selama 3 – 5 menit
5. Mounting
    - a. Mengencerkan Entelan, Canada Balsam / DAKO® Faramount.

### 3.6. Pengamatan Penelitian

Pengamatan secara mikroskopis dari preparat imunohistokimia ditujukan pada banyaknya sekresi INF- $\gamma$  yang diekspresikan oleh sel limfosit di lamina propria *ileum* pada suatu lapangan pandang dengan metode score. Setiap preparat dilihat dengan pembesaran 1000X sebanyak 5 lapangan pandang yang dipilih secara acak kemudian data yang diperoleh di rata-rata (Gunal, *et al* 2006). Metode score yang digunakan adalah:

Score: 0 : Tidak terdapat sekresi INF- $\gamma$  yang diekspresikan ileum

1 : Terdapat sekresi INF- $\gamma$  < 25 %

2 : Terdapat sekresi INF- $\gamma$  25% - 50%

3 : Terdapat sekresi INF- $\gamma$  50% - 75%

4 : Terdapat sekresi INF- $\gamma$  >75%





### 3.7. Analisis Data

Data yang terkoleksi disajikan secara deskriptif. Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji *Kruskal – Wallis One – Way Analysis Of Variance By Rank* (Ghozali, 2006). Tingkat signifikansi yang digunakan pada penelitian ini adalah 5%. Penghitungan secara statistik dilakukan dengan SPSS 12 *for Windows*. Apabila diperoleh perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) antara perlakuan, uji statistik dilanjutkan dengan menghitung nilai kritis pada setiap perbedaan. Penghitungan nilai kritis berdasarkan uji signifikansi menggunakan pertidaksamaan dengan rumus:

$$C = k(k - 1) / 2$$

$$n.k = z \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left( \frac{1}{nu} + \frac{1}{nv} \right)}$$

Keterangan:

C : Koefisiensi

k : Banyaknya kelompok

z : tabel z

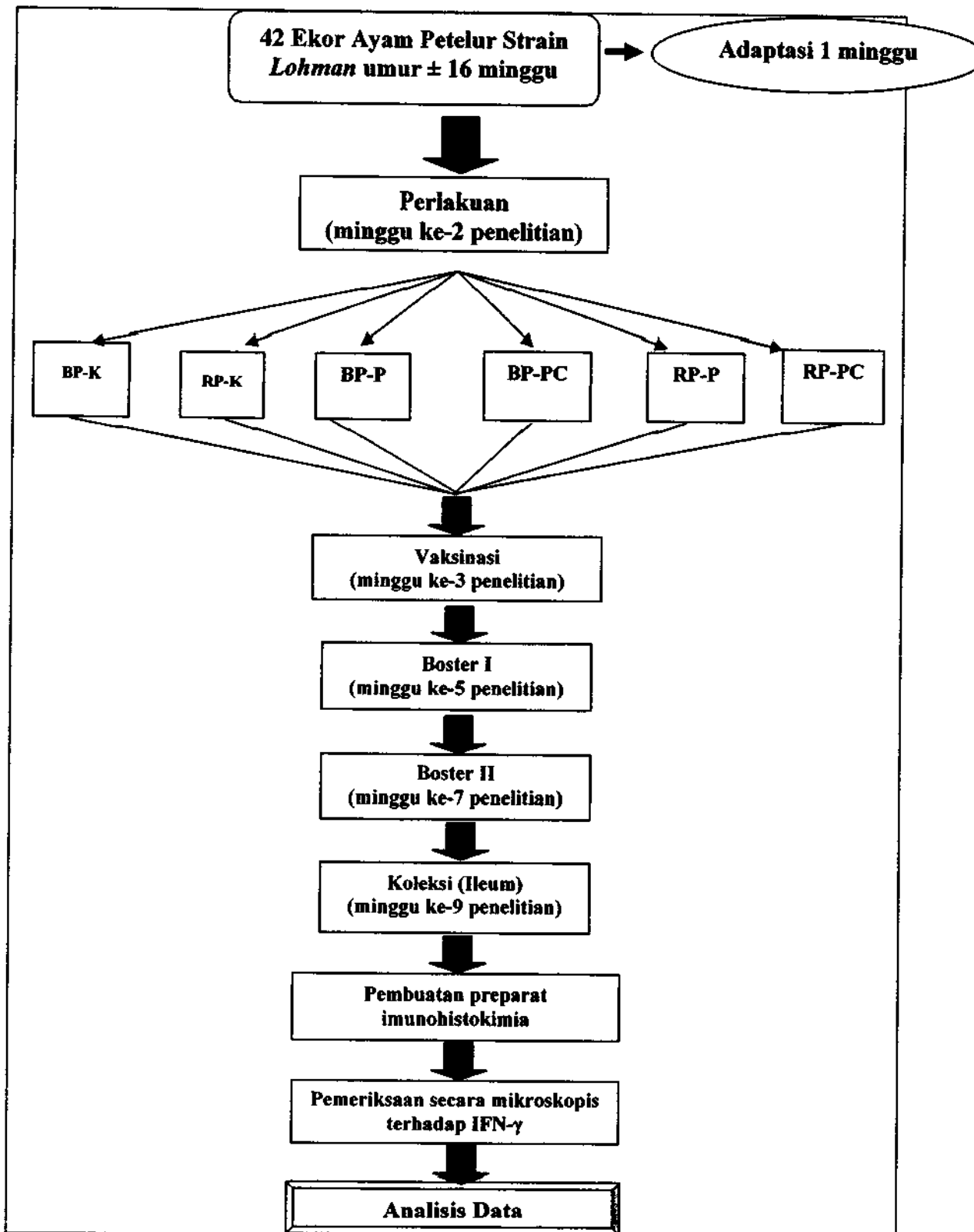
nu/nv : Banyaknya ulangan pada setiap kelompok

N : Banyaknya sampel

Sumber: Ghozali (2006).



### 3.8. Kerangka Operasional





## **BAB 4**

# HASIL PENELITIAN

BAR 4

HASIL PENELITIAN

## BAB 4 HASIL PENELITIAN

### 4.1. Ekspresi IFN- $\gamma$ pada Lamina Propria Ileum Ayam Petelur dengan Perlakuan Ransum Basal Protein dan Rendah Protein

Hasil yang diperoleh dari penelitian tentang ekspresi IFN- $\gamma$  pada lamina propria ileum ayam petelur dengan perlakuan rendah protein dan basal protein sebagai berikut:

Tabel 4.1. Rata-rata dan simpangan baku ekspresi IFN- $\gamma$  pada lamina propria ileum ayam petelur dengan perlakuan ransum rendah protein dan basal protein.

Protein Pakan	Rata-rata dan simpangan baku ekspresi IFN- $\gamma$
Basal Protein	27,10 $\pm$ 1,076 <sup>a</sup>
Rendah Protein	15,90 $\pm$ 0,997 <sup>b</sup>

Keterangan: a, b: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ).

Hasil perhitungan statistik dengan menggunakan uji *Kruskal –Wallis One – Way Analysis Of Variance By Rank* menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) antara perlakuan ransum rendah protein dengan basal protein terhadap sekresi IFN- $\gamma$  di lamina propria ileum ayam petelur. Pemberian ransum dengan protein  $\pm 18\%$  memperlihatkan adanya sekresi IFN- $\gamma$  yang tinggi. Tampak juga bahwa pemberian ransum dengan protein  $\pm 14\%$  akan berdampak pada penurunan sekresi IFN- $\gamma$  pada lamina propria ileum ayam petelur. Sekitar 25% IFN- $\gamma$  yang disekresi jika ayam diberi ransum rendah protein dan sekitar 50-75% IFN- $\gamma$  yang disekresi jika ayam diberi ransum basal protein. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian basal protein pada ransum ayam petelur dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$ .





Hasil perhitungannya dengan menggunakan SPSS 12 for Windows dapat dilihat bahwa nilai rata-rata dan simpangan baku ekspresi dari IFN- $\gamma$  tertinggi terdapat pada pemberian ransum dengan basal protein dan yang terendah terdapat pada pemberian ransum dengan rendah protein.

#### 4.2 Ekspresi IFN- $\gamma$ pada Lamina Propria Ileum Ayam Petelur dengan Pemberian Suplementasi Probiotik dan Kombinasi Probiotik-*Chlorella* dalam Ransum

Hasil yang diperoleh dari penelitian tentang ekspresi IFN- $\gamma$  pada lamina propria ileum ayam petelur dengan pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella* dalam ransum sebagai berikut:

Tabel 4.2. Rata-rata dan simpangan baku ekspresi IFN- $\gamma$  pada lamina propria ileum ayam petelur dengan pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella* dalam ransum.

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku ekspresi IFN- $\gamma$
Kontrol	11,39 $\pm$ 0,611 <sup>b</sup>
Probiotik	25,36 $\pm$ 0,745 <sup>a</sup>
Probiotik- <i>Chlorella</i>	27,75 $\pm$ 1,139 <sup>a</sup>

Keterangan: a, b: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ).

Hasil perhitungan statistik dengan menggunakan uji *Kruskal – Wallis One – Way Analysis Of Variance By Rank* menunjukkan bahwa pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* mempengaruhi produksi IFN- $\gamma$  di lamina propria ileum ayam petelur. Sekresi IFN- $\gamma$  yang terekspresi pada lamina propria ileum ayam petelur yang diberi suplementasi Probiotik dan kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) dibanding dengan sekresi IFN- $\gamma$  yang terekspresi pada lamina propria ileum ayam petelur tanpa pemberian suplementasi. Perlakuan tanpa



pemberian suplementasi apapun memperlihatkan sekresi IFN- $\gamma$  pada lamina propria ileum sebesar kurang dari 25%. Adapun pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* mampu meningkatkan ekspresi IFN- $\gamma$  hingga 75%. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella* dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$ .

Nilai rata-rata dan simpangan baku ekspresi dari IFN- $\gamma$  tertinggi terdapat pada pemberian suplementasi kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* dan yang terendah terdapat pada perlakuan kontrol (tanpa pemberian suplementasi). Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) antara pemberian suplementasi Probiotik dengan perlakuan tanpa pemberian suplementasi. Begitu juga dengan perlakuan pemberian suplementasi kombinasi Probiotik-*Chlorella* dengan perlakuan tanpa suplementasi menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ). Sedangkan ayam yang diberi suplementasi Probiotik dengan ayam yang diberi suplementasi kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* tidak berbeda nyata.

#### **4.3 Ekspresi IFN- $\gamma$ pada Lamina Propria Ileum Ayam Petelur dengan Perlakuan Ransum Rendah Protein dan Basal Protein yang Diberi Suplementasi Probiotik dan Kombinasi antara Probiotik-*Chlorella***

Hasil yang diperoleh dari penelitian tentang ekspresi IFN- $\gamma$  pada ileum ayam petelur dengan perlakuan ransum rendah protein dan basal protein yang diberi suplementasi Probiotik dan kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* sebagai berikut:



Tabel 4.3. Rata-rata dan simpangan baku ekspresi IFN- $\gamma$  pada lamina propria ileum ayam petelur dengan perlakuan ransum rendah protein dan basal protein yang diberi suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella*.

Perlakuan	Rata-rata dan simpangan baku ekspresi IFN- $\gamma$
Kontrol basal protein	13,93 $\pm$ 0,535 <sup>b</sup>
Kontrol rendah protein	7,50 $\pm$ 0,000 <sup>c</sup>
Probiotik basal protein	29,07 $\pm$ 0,535 <sup>ab</sup>
Probiotik rendah protein	22,00 $\pm$ 0,577 <sup>ab</sup>
Probiotik- <i>Chlorella</i> basal protein	38,29 $\pm$ 0,488 <sup>a</sup>
Probiotik- <i>Chlorella</i> rendah protein	18,21 $\pm$ 0,488 <sup>b</sup>

Keterangan: a, b, c: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ).

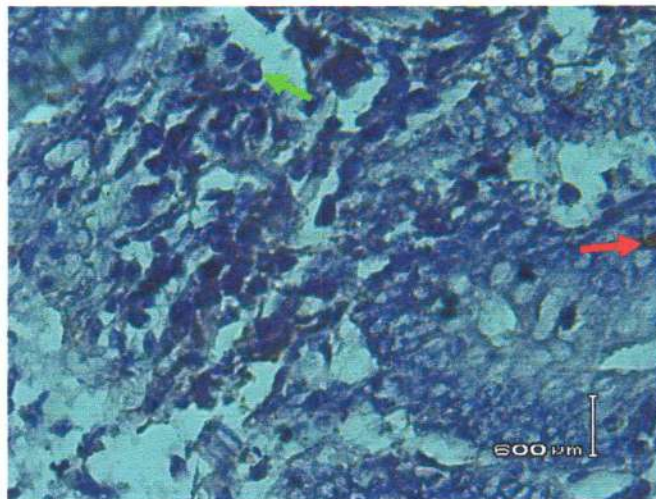
Hasil perhitungan statistik dengan menggunakan uji *Kruskal – Wallis One – Way Analysis Of Variance By Rank* menunjukkan bahwa perlakuan basal protein dan rendah protein pada ransum dengan pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella* mempengaruhi ekspresi IFN- $\gamma$  di lamina propria ileum ayam petelur. Sekresi IFN- $\gamma$  yang terekspresi pada lamina propria ileum ayam petelur yang diberi perlakuan ransum basal protein dengan suplementasi kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) dibanding dengan sekresi IFN- $\gamma$  yang terekspresi pada lamina propria ileum ayam petelur yang diberi perlakuan ransum rendah protein dan basal protein tanpa pemberian suplementasi. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan ransum rendah protein dan basal protein yang diberi suplementasi Probiotik-*Chlorella* dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$ .

Nilai rata-rata dan simpangan baku ekspresi dari IFN- $\gamma$  tertinggi terdapat pada perlakuan ransum basal protein yang diberi suplementasi Probiotik-*Chlorella* dan yang terendah terdapat pada perlakuan kontrol rendah protein



(tanpa suplementasi). Hasil yang didapat menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) antara perlakuan kombinasi Probiotik-*Chlorella* basal dibandingkan dengan perlakuan Probiotik-*Chlorella* rendah protein, kontrol basal dan kontrol rendah protein. Sedangkan perlakuan kontrol basal dan Probiotik - *Chlorella* rendah protein tidak berbeda nyata.

Perlakuan Probiotik-*Chlorella* basal, Probiotik basal dan Probiotik rendah protein menunjukkan tidak berbeda nyata.



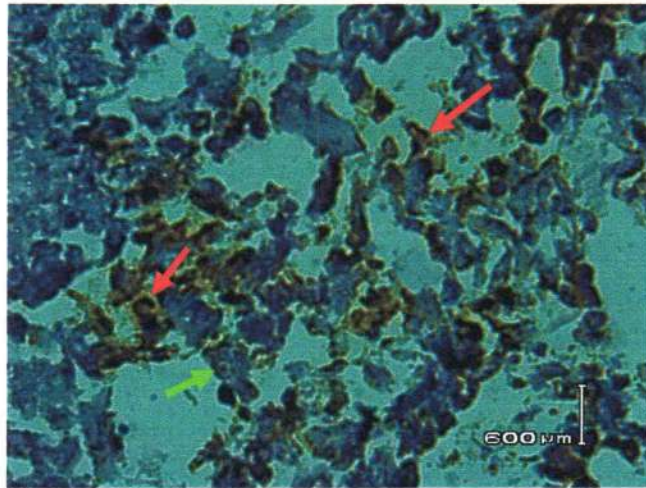
**Gambar 4.1. Ekspresi IFN- $\gamma$  pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur dengan perlakuan kontrol rendah protein.**

Keterangan gambar:

- → : Sel yang mengekspresikan IFN- $\gamma$
- → : Sel yang tidak mengekspresikan IFN- $\gamma$



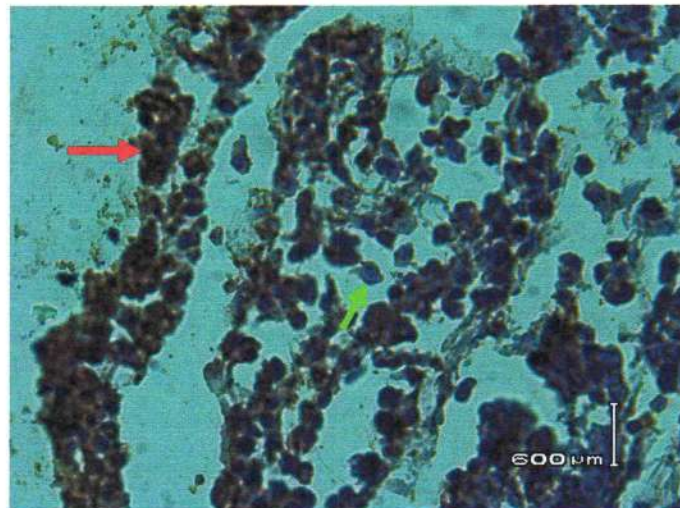




**Gambar 4.2.** Ekspresi IFN- $\gamma$  pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur diberi perlakuan rendah protein dengan suplementasi Probiotik.

Keterangan gambar:

- → : Sel yang mengekspresikan IFN- $\gamma$
- → : Sel yang tidak mengekspresikan IFN- $\gamma$

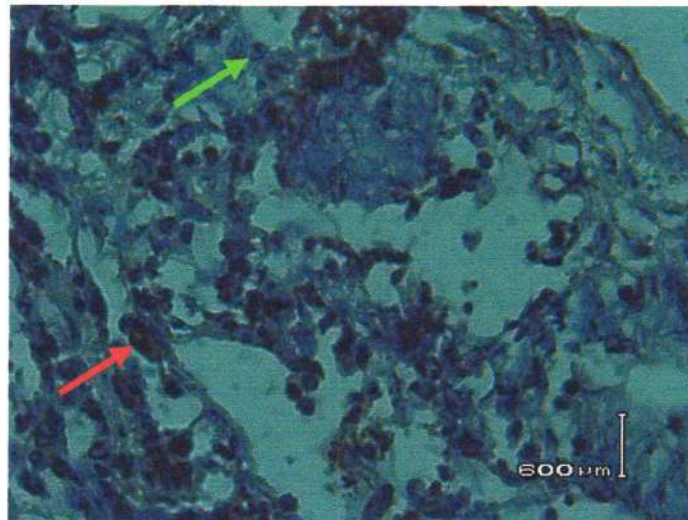


**Gambar 4.3.** Ekspresi IFN- $\gamma$  pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur yang diberi perlakuan rendah protein dengan suplementasi Probiotik-*Chlorella*.

Keterangan gambar:

- → : Sel yang mengekspresikan IFN- $\gamma$
- → : Sel yang tidak mengekspresikan IFN- $\gamma$

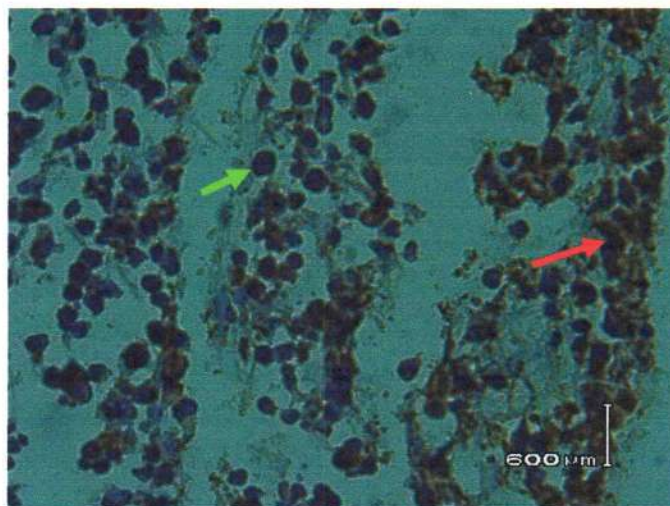




**Gambar 4.4.** Ekspresi IFN- $\gamma$  pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur dengan perlakuan kontrol basal protein.

Keterangan gambar:

- → : Sel yang mengekspresikan IFN- $\gamma$
- → : Sel yang tidak mengekspresikan IFN- $\gamma$



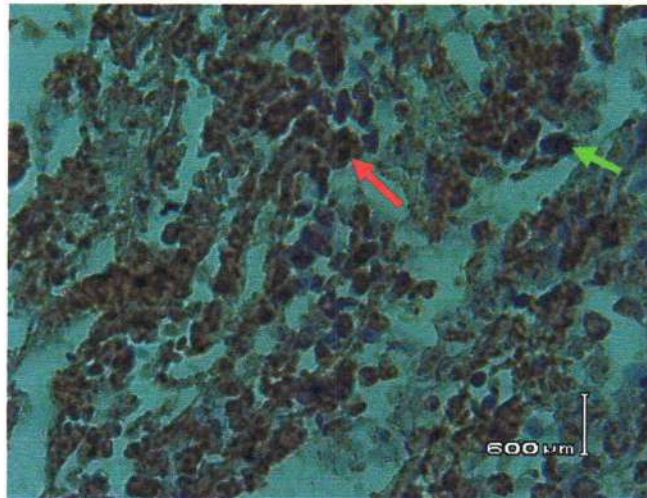
**Gambar 4.5.** Ekspresi IFN- $\gamma$  pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur yang diberi perlakuan basal protein dengan suplementasi Probiotik.

Keterangan gambar:

- → : Sel yang mengekspresikan IFN- $\gamma$
- → : Sel yang tidak mengekspresikan IFN- $\gamma$







**Gambar 4.6. Ekspresi IFN- $\gamma$  pada sel limfosit di lamina propria ileum ayam petelur yang diberi perlakuan basal protein dengan suplementasi Probiotik-*Chlorella*.**

Keterangan gambar:

- → : Sel yang mengekspresikan IFN- $\gamma$
- → : Sel yang tidak mengekspresikan IFN- $\gamma$

Ekspresi IFN- $\gamma$  yang divisualisasikan dengan mensekresikan antibodi primer dengan menggunakan mikroskop pembesaran 1000 kali. Sel yang mengekspresikan IFN- $\gamma$  tampak berwarna coklat keemasan dari kromogen DAB (Diamino Benzidine) dan sel tetap berwarna biru keunguan bila tidak mengekspresikan IFN- $\gamma$ .



## **BAB 5**

# **PEMBAHASAN**

BAB 2

REVISI



## BAB 5 PEMBAHASAN

Perlakuan ransum rendah protein dan basal protein mempengaruhi sekresi IFN- $\gamma$  di lamina propria ileum ayam petelur. Pemberian basal protein pada ransum ayam petelur dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$  sekitar 50-75% IFN- $\gamma$  yang terekspresi pada lamina propria dari ileum ayam petelur. Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan ransum basal protein terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) dibanding dengan sekresi IFN- $\gamma$  yang terekspresi pada lamina propria dari ileum ayam petelur yang diberi perlakuan ransum low protein (sekresi IFN- $\gamma$  sekitar 25%). Gambar dari histopatologi menunjukkan bahwa sel limfosit pada perlakuan basal protein lebih banyak mensekresi IFN- $\gamma$  dibandingkan dengan perlakuan rendah protein. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari National Research Council (1989) bahwa defisiensi protein dalam ransum akan menurunkan respon imun hewan terhadap infeksi bakteri, virus dan jamur. Tizard (1987) menyatakan bahwa salah satu respon imun primer terhadap infeksi virus yaitu dengan memproduksi interferon.

Gambar dari histopatologi pada ayam petelur yang diberi suplementasi kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* dalam ransum menunjukkan bahwa ayam petelur dengan suplementasi kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* mengekspresikan IFN- $\gamma$  lebih banyak dibandingkan dengan ayam petelur yang diberi suplementasi Probiotik maupun ayam petelur tanpa suplementasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Steenblock (2000) bahwa dinding sel *Chlorella* dapat merangsang sekresi interferon. Sedangkan ayam petelur yang diberi suplementasi



Probiotik lebih tinggi dibandingkan dengan ayam petelur tanpa suplementasi. Sesuai dengan pernyataan Samadi (2002) bahwa probiotik sebagai pakan tambahan yang mampu meningkatkan respon imun pada ternak.

Produksi IFN- $\gamma$  yang diekspresikan oleh sel limfosit pada lamina propria ileum ayam petelur paling banyak terdapat pada ayam petelur dengan perlakuan kombinasi antara Probiotik-*Chlorella* dalam ransum basal protein. Hal ini sesuai dengan pernyataan Erickson *et al.* (2000) bahwa probiotik berpengaruh terhadap pembentukan sistem imun humoral maupun sistem imun seluler. Kostiuk *et al.* (1992) dan Koenen *et al.* (2004) juga menyatakan bahwa probiotik bertindak sebagai agen *Immunomodulator* dari respon imun spesifik dan respon imun non-spesifik pada unggas. Sistem imun terdiri dari beberapa macam limfosit serta turunan dari monosit/makrofag, sel dendrit dan sel NK (Fenner *et al.*, 1995). Sel T (sitotoksik dan Th1) dan sel NK mensekresi interferon (IFN- $\gamma$ ). Tse (2000) menyatakan bahwa *Chlorella* menstimulasi interferon sebagai efek dari anti virus. Pernyataan ini didukung oleh Steenblock (2000) yang menyatakan bahwa *Chlorella* mengandung arginin. Dimana asam amino arginin dengan stimulator enzim *nitric oxide synthase* dalam sel menghasilkan gas nitrogen oksida dan nitrogen oksida ini berperan dalam sistem imunitas tubuh (Silalahi, 2005).

Kombinasi antara Probiotik dan *Chlorella* dicampurkan dalam ransum basal protein pada penelitian ini dapat menstimulasi imunitas mukosa saluran cerna terutama pada ileum dengan hasil tertinggi dengan mengekspresikan IFN- $\gamma$ . Sekresi IFN- $\gamma$  yang diekspresikan oleh lamina propria ileum sedikit lebih rendah terdapat pada perlakuan Proboitik dalam ransum basal protein dan Probiotik



dalam ransum rendah protein disebabkan kandungan nutrisi rendah protein (14%) lebih rendah dibanding dengan kandungan nutrisi dalam basal protein (18%). Sekresi IFN- $\gamma$  yang paling rendah terdapat pada perlakuan kontrol rendah protein tanpa suplementasi yang dapat merangsang respon imun ditunjukkan dengan sekresi IFN- $\gamma$ .

Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Steenblock (2000) bahwa *Chlorella* menyebabkan kadar interferon lebih tinggi.



## **BAB 6**

# **KESIMPULAN DAN SARAN**

BAB 6

KRISTALISASI DAN SARAF



## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan serta pembahasannya, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian ransum basal protein dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$  setelah pemberian vaksin *Avian Influenza* pada ayam petelur.
2. Pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella* dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$  setelah pemberian vaksin *Avian Influenza* ayam petelur.

### 6.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian suplementasi Probiotik-*Chlorella* terhadap pencegahan pada ayam petelur yang diinfeksi virus *Avian Influenza*.
2. Penelitian ini dapat memberikan informasi kepada peternak ayam petelur khususnya dan pada industri peternakan serta masyarakat pada umumnya tentang manfaat Suplementasi Probiotik-*Chlorella* sebagai *food additif* dan *food safety* yang dapat mengoptimalkan sistem imun pada unggas dalam upaya pencegahan dan pengendalian virus *Avian Influenza*.



# RINGKASAN

RINGKASAN

## RINGKASAN

Budidaya ayam petelur di lapangan tidak mudah. Kesalahan manajemen pemeliharaan membawa dampak yang besar pada peternakan ayam tersebut. Ayam petelur mudah stres sehingga mudah terserang penyakit. Di lapangan stres yang banyak terjadi disebabkan oleh beberapa faktor termasuk kualitas pakan yang rendah. Kondisi seperti ini memungkinkan penularan penyakit salah satu penyebabnya adalah virus *Avian Influenza*. Dalam rangka memecahkan masalah tersebut Probiotik dan *Chlorella* diberikan dalam ransum untuk memicu respon imun pada ayam petelur. Probiotik dan *Chlorella* dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$  di lamina propria ileum.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kadar protein dalam ransum terhadap sekresi IFN- $\gamma$  setelah pemberian vaksin Avian Influenza pada ayam petelur dan untuk mengetahui pengaruh suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik–*Chlorella* terhadap sekresi IFN- $\gamma$  setelah divaksin Avian Influenza pada ayam petelur.

Penelitian dilakukan mulai 9 April sampai dengan 30 Mei 2007 di Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, penimbangan pakan dilakukan di Laboratorium Anatomi, dan Pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penelitian ini mempunyai tipe perancangan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 unit perlakuan. Setiap unit perlakuan diulang sebanyak 7 kali ulangan. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini yaitu kontrol



basal protein (kandungan protein kasar 18%) tanpa mendapat suplementasi, ransum basal protein dengan penambahan Probiotik, ransum basal protein dengan penambahan kombinasi Probiotik-*Chlorella*, kontrol rendah protein (kandungan protein kasar  $\pm 14\%$ ) tanpa mendapat suplementasi, ransum rendah protein dengan penambahan Probiotik, ransum rendah protein dengan penambahan kombinasi Probiotik-*Chlorella*. Ayam yang baru datang diberi air gula selanjutnya dipelihara untuk adaptasi selama satu minggu. Pada hari ke delapan hingga akhir penelitian, hewan coba diberi perlakuan. Pemberian pakan dan air minum secara *ad libitum*. Satu minggu setelah perlakuan dimulai ayam divaksinasi dengan vaksin *Avian influenza* dan dikuti dengan vaksinasi booster I dan II masing-masing berjarak dua minggu dari vaksinasi yang pertama.

Hasil penelitian ini menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) antara perlakuan ransum basal protein dengan perlakuan ransum rendah protein. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella* terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan tanpa suplementasi. Pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella* dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$  pada sel limfosit di lamina propria *ileum*. Kombinasi Probiotik-*Chlorella* dalam ransum basal protein paling tinggi meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$  pada sel limfosit di lamina propria *ileum*.

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ransum basal protein dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$  setelah pemberian vaksin *Avian Influenza* pada ayam petelur dan pemberian suplementasi





**Probiotik dan kombinasi Probiotik–*Chlorella* dapat meningkatkan sekresi IFN- $\gamma$  setelah pemberian vaksin *Avian Influenza* ayam petelur.**



## DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, K. A., Lichtman H. A. 2003. *Cellular and Molecular Immunology*. Library of Congress Cataloging in Publication Data. Elsevier Sciece (USA).
- Abidin, Z. 2003. *Ayam Ras Petelur*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Anggorodi, R. 1985. *Kemajuan Mutakhir dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas*. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta
- Bains, B. S. 1996. *The Rule of Vitamin C in Stress Management*. World Poultry Missed. Volume 12 no 4
- Baratawidjaja, G. K. 2006. *Imunologi Dasar*. Edisi ke-7. Balai Penerbit FK UI. Jakarta.
- Bock, H. D., Egum, B. O., Low, A. G., Simon, O., and Zebrowska, T. 1989. *Protein Metabolism in Farm Animals Evaluation, Digestion, Absorbtion and Metabolism*. Oxford Science Publications. Berlin
- Bunchasak, C., PooSuwan, K., Nurkraew, R., Markvichitr, K., and Chototesa, A., 2005. *Effect Dietary Protein on Egg Production and Immunity Responses of Lying Hens During Peak Production Period*. International Journal of Poultry Science 4 (9): 701-708 (Abstract). ([www.pjbs.org/jips/ab445.htm](http://www.pjbs.org/jips/ab445.htm))
- Crawford, J.S. 1979. Probiotics in Animal Nutrition. Arkansas Nutr. Conf; 45-55.
- Dalhousie. 2007. Interferon Gamma. Faculty of Medicine. Canada. <http://www.dal.ca>.
- Erickson, L. Kent. H., Neil. 2000. Probiotik Immunomodulation in Healt and Disease. Journal of Nutrition. The American Society for Nutrition Sciences.
- Fairchild, J., Shane, Ruessler and Carlson. 1998. *Comparative Sensitivity of Five Macrophytes and Six Spesies of Algae to Trazine, Metribuzine Alachlor and Metachlor*. Columbia Environmental Research Center. Columbia
- FAO. 2005. Pencegahan dan Pengendalian Flu Burung (*Avian Influenza*) Pada Peternakan Unggas Skala Kecil. [http://www.fao.org/againfo/subjects/documents/ai/AI\\_GuideIndonesia.pdf](http://www.fao.org/againfo/subjects/documents/ai/AI_GuideIndonesia.pdf)



- Fenner, J. Frank. Gibbs J., Paul E., Murphy A. Frederick, Rott Rudolf., Studdert J. Michael, White O. David. 1995. *Virologi Veteriner*. Edisi ke-2. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Fuller, R. 1989. *History and Development of Probiotics. Probiotics The Scientific Basis*. London, New York, Tokyo, Melbourn.
- Gheng Zou, S. And Wu, Y.Z., 2005. *Effects of Protein and Supplemental Fat on Performance of Lying Hens (Abstract)*. *International Journal of Poultry Science* 4 (12): 986-989. [www.pjbs.org/jips/ab419.htm](http://www.pjbs.org/jips/ab419.htm)
- Ghozali, I. 2006. *Statistik Non – Parametrik. Teori dan Aplikasi dengan Program SPSS*. Hal. 144 – 146.
- Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Karahan, N., and Sulak, O. 2006. *The Effect of Antibiotic Growth Promoter, Probiotik or Orgainc Acid Supplementation on Performance, Intestinal Microflora and Tissue of Broilers*. *International Journal of Poultry Science* 5 (2): 149 - 155
- Gunawan dan Sundari, M.M.S. 2003. *Pengaruh Penggunaan Probiotik Dalam Ransum Terhadap Produktivitas Ayam*. *WARTAZOA* Vol. 13 No. 3
- Hasegawa, T., K. Noda, S. Kumamoto, Y. Ando, A. Yamada dan Y. Yoshikai. 2000. *Chlorella vulgaris culture supernatant (CVS) reduces Physiological stress-induced apoptotic in thymocytes of mice*. *Int.J. Immunopharmacol.* Nov. 22 (11) : 877-855
- [http://www.naturalways.com/m\\_chlor.htm](http://www.naturalways.com/m_chlor.htm). 2006. *Chlorella's Nutritional Analysis*
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorella>.2007
- <http://en.wikipedia.org/wiki/image:IFN2.jpeg>.2007
- Jensen, B. 1987. *Chlorella Germ of Orient The Dynamic Food Discovery Health and Healing 1<sup>st</sup> Ed*. Benard Jensen. Escandido
- Leeson, S and Summers, J.D., Editor Theodorou, M. K. And France, J. 2000. *Feeding Systems and Feed Evaluation Models*. CABI Publishing. United Kingdom
- Koenen, M.E., J. Kramer, R. van der Hulst, L. Heres, S.H. Zulkifli *et al.* (2000) and Dalloul *et al.* (2003). Jeurissen and W.J. Boersma, 2004. *Post avian influenza (H9) virus challenge mortality and and meat-type chickens*. *Br. Poult. Sci.*, 45: 355-66.





- Kostiuk, O.P., C.Z. Cherryshora and A.P. Volokha, 1992. The current concepts of the influence of *Lactobacilli* on the immune system of the human body. *Fiziol. Zh.*, 43: 106-115.
- Mohamad, K. 2007. Flu Burung. Adapted from [www.InfluenzaReport.com](http://www.InfluenzaReport.com)
- National Research Council, 1989. Nutrient Requirement for Dairy Cattle. National Academic Press. Washington DC .
- Patu, I. 2007. Flu Burung di Indonesia. <http://www.infeksi.com>
- Paramita, W.L. dan Koestanti, E. S. 2000. *Efek Penggunaan Bakteri Asam Laktat Terhadap Kecernaan Protein Kasar pada Ayam Pedaging Jantan*. *Media Kedokteran Hewan*. 16 (3).
- Pascual, M., M. Hugas, J. I. Badiola, J. M. Monfort, and M.Garriga. 1999. *Lactobacillus salivarius* CTC2197 prevents *Salmonella enteritidis* colonization in chicken. *Appl. Environ. Microbial.* 65:4981 – 4986
- Perroncito CE. 1878 (it. Typhoid epizootic in Gallinaceous birds). *Epizoozia tifoidee nei Gallinacei*. Torino.
- Petzke, Mary. 2007. *Mucosal Immunology and Vaccine Development*. Harvard Medical School.  
[http://www.brown.edu/Courses/Bio\\_160/handouts/feb23.pdf](http://www.brown.edu/Courses/Bio_160/handouts/feb23.pdf)
- Quéré, P., and F. Girard. 1999. Systemic adjuvant effect of cholera toxin in the chicken. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 70:135-141
- Safitri, R. 2004. *Menjaga Keseimbangan Energi – Protein Pakan, Poultry Indonesia*. Mei. Jakarta. Hal 62 – 64.
- Samadi. 2002. *Probiotik Pengganti Antibiotik Dalam Pakan Ternak*.  
<http://www.ppi-goettingen.de/index.html>
- Samsi, M. 2007. *Imunitas Tubuh. Tinjauan Pustaka*.  
<http://www.damandiri.or.id/file/muhamadsamsiipbbab2.pdf>
- Silalahi, J. 2005. Gas Nitrogen Oksida. *Cermin Dunia Kedokteran* No 147.  
<http://www.kalbe.co.id>
- Starr, C. And Taggart. 1995. *Biology-The Unity and Diversity of Life 7<sup>ed</sup> Ed.* Wadsworth Publ. Comp. Washington
- Steenblock. 2000. *Chlorella Makanan Sehat Alami. Cetakan Ke-tujuh*. PT. Panebar Swadaya. Jakarta



- Sudarmono, A.S. 2003. *Pedoman Pemeliharaan Ayam Ras Petelur*. Kanisius. Yogyakarta.
- Sunoto. 1994. *Peranan Chlorella Pada Tumbuh Kembang Anak. (Simposium : Peranan Gizi Keluarga dalam Meningkatkan Kesehatan ibu dan Anak Menuju Manusia Indonesia Berkualitas)*. Kampus Usakti. Jakarta
- Supriyatna, E., Atmomarsono, U., Kartasudjana, R. 2005. *Ilmu Dasar Ternak Unggas*. PT Panebar Swadaya. Jakarta
- Suriawiria, U. 2002. *Chlorella*.
- Tabbu, C. R. 2000. *Penyakit Ayam dan Penanggulangannya*. Vol. 1. Kanisius. Yogyakarta.
- Tizard, I. 1987. *Pengantar Immunologi Veteriner*. Airlangga University Press. Surabaya
- Tse, P. 2000. *The Detoxification, Immunostimulation and Healing Properties of Chlorella*. World Convention of Traditional Medicine & Acupuncture Singapura.
- Wilson, D. 2007. *Poultry. A Guide to Anatomy and Selected Species*. The University of Illinois Board of Trustees. Urbana. <http://www.aces.uiuc.edu/ITCS/IM>
- Wiyono, A., R. Indriani, N.L.P.I. Dharmayanti, R. Damayanti, L. Parede, T. Syafriati dan Darminto. 2004. *Isolasi dan Karakterisasi Virus Highly Pathogenic. Avian Influenza Subtipe H5 dari Ayam Asal Wabah di Indonesia*. Balai Penelitian Veteriner. Bogor



# LAMPIRAN

LAMPIRAN

**Lampiran 1. Analisa Pakan Komplit Butiran Ayam Petelur (Layer II) CP 524-2 PT Charoen Pokphand Indonesia**

Air	Max	13,0
Protein	-	18 – 19
Lemak	Min	3,0
Serat	Max	6,0
Abu	Max	12,0
Calcium	Min	3,70
Phosphor	Min	0,60

Tabel : Kandungan Nutrisi Pakan

Sumber : PT. Charoen Pokphand Indonesia

**Bahan-bahan yang dipakai, antara lain :**

Jagung, dedak, tepung ikan, bungkil kedelai, bungkil kelapa, tepung daging dan tulang, pecahan gandum, bungkil kacang tanah, canola, tepung daun, vitamin, calcium, fosfat dan trace mineral.

**Antibiotik :**

Zinc Bacitrasin





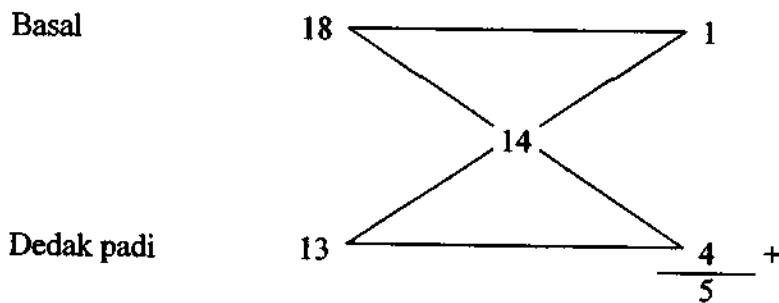
**Lampiran 2. Hasil Analisis Mikrobiologi Pupuk Cair Defiton Produk PT. Sagarmatna Multi Karya**

1	Bakteri Total	$1,15 \times 10^5$
2	Jamur Total	$3,25 \times 10^5$
3	<i>Actinomyces</i> Total	$2,00 \times 10^5$
4	Bakteri Asam Laktat ( <i>Lactobacillus</i> )	$1,25 \times 10^4$
5	<i>Rhizobium</i>	$9,00 \times 10^4$
6	<i>Azotobacter</i>	$2,50 \times 10^4$
7	Jamur Pelarut Fosfat	$6,00 \times 10^4$
8	<i>Actinomyces</i> pelarut fosfat	$5,55 \times 10^4$
9	Jamur selulolitik	$1,00 \times 10^5$
10	<i>Actinomyces</i> selulolitik	$6,00 \times 10^5$

Sumber : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas pertanian Universitas Gadjah Mada (2001)



**Lampiran 3. Perhitungan Penyusunan Ransum Rendah Protein Dengan Metode Bujur Sangkar *Pearsons*.**



**Komposisi :**

$$\text{Basal} = 1/5 \times 100 \text{ kg} = 20 \text{ kg}$$

$$\text{Dedak padi} = 4/5 \times 100 \text{ kg} = 80 \text{ kg}$$

**Perbandingan**

$$\text{Basal : Dedak padi} = 20 : 80$$

$$= 1 : 4$$

**Keterangan :** Basal adalah ransum Komplit Butiran Ayam Petelur (Layer II) CP 524-2 Produksi PT Charoen Phokphand Indonesia



**Lampiran 4. Tabel Percobaan Perbandingan Kombinasi Probiotik-Chlorella Terhadap pH yang Dihasilkan**

<b>Perbandingan Probiotik : <i>Chlorella</i></b>	<b>pH yang dihasilkan</b>
1 : 0	3
0 : 1	8
1 : 1	7
1 : 2	4
2 : 1	5
2 : 3	5
2,5 : 3	6

**Keterangan :**

pH awal Probiotik = 3

pH awal *Chlorella* = 8



**Lampiran 5. Hasil Perhitungan SPSS XII for Windows****1. Perlakuan ransum basal protein dan ransum rendah protein****NPar Tests****Kruskal-Wallis Test****Ranks**

	Kelompok protein pakan	N	Mean Rank
Protein pakan	basal	21	27.10
	low	21	15.90
	Total	42	

**Test Statistics(a,b)**

	Protein pakan
Chi-Square	9.687
df	1
Asymp. Sig.	.002

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: Kelompok protein pakan

**Summarize****Case Processing Summary(a)**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Protein pakan * Kelompok protein pakan	42	100.0%	0	.0%	42	100.0%

a Limited to first 100 cases.





Case Summaries(a)

			Protein pakan
Kelompok protein pakan	basal	1	25-50
		2	ada (<25)
		3	ada (<25)
		4	25-50
		5	25-50
		6	ada (<25)
		7	ada (<25)
		8	50-75
		9	50-75
		10	25-50
		11	25-50
		12	50-75
		13	50-75
		14	25-50
		15	>75
		16	50-75
		17	>75
		18	50-75
		19	>75
		20	>75
		21	>75
	Total	N	21
		Median	3.00
		Std. Deviation	1.076
low		1	ada (<25)
		2	ada (<25)
		3	ada (<25)
		4	ada (<25)
		5	ada (<25)
		6	ada (<25)
		7	ada (<25)
		8	50-75
		9	25-50
		10	25-50
		11	25-50
		12	ada (<25)
		13	25-50
		14	25-50
		15	25-50
		16	25-50
		17	ada (<25)
		18	25-50
		19	25-50



	20		ada (<25)
	21		25-50
	Total	N	21
		Median	2.00
		Std. Deviation	.598
Total	N		42
	Median		2.00
	Std. Deviation		.997

a Limited to first 100 cases.

**2. Perlakuan pemberian suplementasi probiotik dan kombinasi Probiotik-**

*Chlorella* dalam ransum.

**NPar Tests  
Kruskal-Wallis Test**

**Ranks**

	kelompok perlakuan	N	Mean Rank
perlakuan	kontrol	14	11.39
	probiotik	14	26.36
	probiotik-chlorella	14	27.75
	Total	42	

**Test Statistics(a,b)**

	perlakuan
Chi-Square	15.950
df	2
Asymp. Sig.	.000

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: kelompok perlakuan

**Summarize**

**Case Processing Summary(a)**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
perlakuan * kelompok perlakuan	42	100.0%	0	.0%	42	100.0%

a Limited to first 100 cases.



Case Summaries(a)

kelompok perlakuan	kontrol		perlakuan
		1	ada <25 %
		2	ada <25 %
		3	25 % - 50 %
		4	25 % - 50 %
		5	ada <25 %
		6	ada <25 %
		7	50 % - 75 %
		8	ada <25 %
		9	ada <25 %
		10	ada <25 %
		11	ada <25 %
		12	ada <25 %
		13	ada <25 %
		14	ada <25 %
		Total	N 14
			Median 1.00
			Std. Deviation .611
	probiotik	1	50 % - 75 %
		2	25 % - 50 %
		3	25 % - 50 %
		4	50 % - 75 %
		5	50 % - 75 %
		6	25 % - 50 %
		7	>75 %
		8	50 % - 75 %



	9		25 % - 50 %
	10		25 % - 50 %
	11		25 % - 50 %
	12		ada <25 %
	13		25 % - 50 %
	14		25 % - 50 %
	<b>Total</b>	<b>N</b>	14
		<b>Median</b>	2.00
		<b>Std. Deviation</b>	.745
probiotik-chlorella	1		>75 %
	2		50 % - 75 %
	3		>75 %
	4		50 % - 75 %
	5		>75 %
	6		>75 %
	7		>75 %
	8		25 % - 50 %
	9		25 % - 50 %
	10		ada <25 %
	11		25 % - 50 %
	12		25 % - 50 %
	13		ada <25 %
	14		25 % - 50 %
	<b>Total</b>	<b>N</b>	14
		<b>Median</b>	2.50
		<b>Std. Deviation</b>	1.139
<b>Total</b>	<b>N</b>		42
	<b>Median</b>		2.00
	<b>Std. Deviation</b>		1.041

a Limited to first 100 cases.





**3. Perlakuan ransum rendah protein dan basal protein yang diberi suplementasi probiotik dan kombinasi antara Probiotik-*Chlorella*.**

**NPar Tests  
Kruskal-Wallis Test**

**Ranks**

	kelompok perlakuan	N	Mean Rank
perlakuan pakan	kontrol basal	7	13.93
	kontrol low	7	7.50
	probiotik basal	7	29.07
	probiotik low	7	22.00
	probiotik-chlorella basal	7	38.29
	probiotik-chlorella low	7	18.21
	Total	42	

**Test Statistics(a,b)**

	perlakuan pakan
Chi-Square	31.122
df	5
Asymp. Sig.	.000

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: kelompok perlakuan

**Summarize**

**Case Processing Summary(a)**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
perlakuan pakan * kelompok perlakuan	42	100.0%	0	.0%	42	100.0%

a Limited to first 100 cases.



## Case Summaries(a)

				perlakuan pakan
kelompok perlakuan	kontrol basal	1		25 % - 50 %
		2		ada <25 %
		3		ada <25 %
		4		25 % - 50 %
		5		25 % - 50 %
		6		ada <25 %
		7		ada <25 %
		Total	N	7
			Median	1.00
			Std. Deviation	.535
	kontrol low	1		ada <25 %
		2		ada <25 %
		3		ada <25 %
		4		ada <25 %
		5		ada <25 %
		6		ada <25 %
		7		ada <25 %
		Total	N	7
			Median	1.00
			Std. Deviation	.000
	probiotik basal	1		50 % - 75 %
2			50 % - 75 %	
3			25 % - 50 %	
4			25 % - 50 %	
5			50 % - 75 %	
6			50 % - 75 %	
7			25 % - 50 %	
	Total	N	7	
		Median	3.00	
		Std. Deviation	.535	
probiotik low	1		50 % - 75 %	
	2		25 % - 50 %	



	3		25 % - 50 %
	4		25 % - 50 %
	5		ada <25 %
	6		25 % - 50 %
	7		25 % - 50 %
	<b>Total</b>	<b>N</b>	<b>7</b>
		<b>Median</b>	<b>2.00</b>
		<b>Std. Deviation</b>	<b>.577</b>
probiotik-chlorella basal	1		>75 %
	2		50 % - 75 %
	3		>75 %
	4		50 % - 75 %
	5		>75 %
	6		>75 %
	7		>75 %
	<b>Total</b>	<b>N</b>	<b>7</b>
	<b>Median</b>	<b>4.00</b>	
	<b>Std. Deviation</b>	<b>.488</b>	
probiotik-chlorella low	1		25 % - 50 %
	2		25 % - 50 %
	3		ada <25 %
	4		25 % - 50 %
	5		25 % - 50 %
	6		ada <25 %
	7		25 % - 50 %
	<b>Total</b>	<b>N</b>	<b>7</b>
	<b>Median</b>	<b>2.00</b>	
	<b>Std. Deviation</b>	<b>.488</b>	
<b>Total</b>	<b>N</b>	<b>42</b>	
	<b>Median</b>	<b>2.00</b>	
	<b>Std. Deviation</b>	<b>.997</b>	

a Limited to first 100 cases.



**Lampiran 6. Hasil Perhitungan****1. Perlakuan ransum basal protein dan rendah protein.**

Diketahui:

$$\triangleright \text{Rata-rata basal protein } (R_1) = 27,10$$

$$\triangleright \text{Rata-rata rendah protein } (R_2) = 15,90$$

$$\triangleright k = 2$$

$$\triangleright nu/nv = 21$$

$$\triangleright N = 42$$

Rumus:

$$C = k(k-1)/2$$

$$n.k = z \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left( \frac{1}{nu} + \frac{1}{nv} \right)}$$

Perhitungan:

$$C = k(k-1)/2$$

$$= 2(2-1)/2$$

$$= 2/2$$

$$= 1$$

$$z = 1,960$$

$$n.k = z \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left( \frac{1}{nu} + \frac{1}{nv} \right)}$$

$$= 1,960 \sqrt{\frac{42(42+1)}{12} \left( \frac{1}{21} + \frac{1}{21} \right)}$$

$$= 7,43$$

$$|R_1 - R_2| = 27,10 - 15,90 = 11,20$$





$$\triangleright R_1 = 27,10^a$$

$$\triangleright R_2 = 15,90^b$$

2. Perlakuan pemberian suplementasi Probiotik dan kombinasi Probiotik-*Chlorella* dalam ransum.

Diketahui:

$$\triangleright \text{Rata-rata kontrol (R}_1\text{)} = 11,39$$

$$\triangleright \text{Rata-rata Probiotik (R}_2\text{)} = 25,36$$

$$\triangleright \text{Rata-rata Probiotik-}Chlorella\text{ (R}_3\text{)} = 27,75$$

$$\triangleright k = 3$$

$$\triangleright nu/nv = 14$$

$$\triangleright N = 42$$

Rumus:

$$C = k(k-1)/2$$

$$n.k = z \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left( \frac{1}{nu} + \frac{1}{nv} \right)}$$

Perhitungan:

$$C = k(k-1)/2$$

$$= 3(3-1)/2$$

$$= 6/2$$

$$= 3$$

$$z = 2,394$$

$$n.k = z \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left( \frac{1}{nu} + \frac{1}{nv} \right)}$$







Rumus:

$$C = k(k-1)/2$$

$$n.k = z \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left( \frac{1}{nu} + \frac{1}{nv} \right)}$$

Perhitungan:

$$C = k(k-1)/2$$

$$= 6(6-1)/2$$

$$= 30/2$$

$$= 15$$

$$z = 2,935$$

$$n.k = z \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left( \frac{1}{nu} + \frac{1}{nv} \right)}$$

$$= 2,394 \sqrt{\frac{42(42+1)}{12} \left( \frac{1}{7} + \frac{1}{7} \right)}$$

$$= 19,245$$

$$|R_1 - R_2| = 13,93 - 7,50 = 6,43$$

$$|R_1 - R_3| = 13,93 - 29,07 = 15,14$$

$$|R_1 - R_4| = 13,93 - 22,00 = 8,07$$

$$|R_1 - R_5| = 13,93 - 38,29 = 24,36$$

$$|R_1 - R_6| = 13,93 - 18,21 = 4,28$$

$$|R_2 - R_3| = 7,50 - 29,07 = 21,57$$

$$|R_2 - R_4| = 7,50 - 22,00 = 14,50$$

$$|R_2 - R_5| = 7,50 - 38,29 = 30,79$$

$$|R_2 - R_6| = 7,50 - 18,21 = 10,71$$



$$|R_3 - R_4| = 29,07 - 22,00 = 7,07$$

$$|R_3 - R_5| = 29,07 - 38,29 = 9,22$$

$$|R_3 - R_6| = 29,07 - 18,21 = 10,86$$

$$|R_4 - R_5| = 22,00 - 38,29 = 16,29$$

$$|R_4 - R_6| = 22,00 - 18,21 = 3,79$$

$$|R_5 - R_6| = 38,29 - 18,21 = 20,08$$

$$\triangleright R_1 = 13,93^{bc}$$

$$\triangleright R_2 = 7,50^c$$

$$\triangleright R_3 = 29,07^{ab}$$

$$\triangleright R_4 = 22,00^{abc}$$

$$\triangleright R_5 = 38,29^a$$

$$\triangleright R_6 = 18,21^{bc}$$

Keterangan:

C : Koefisiensi

k : Banyaknya kelompok

z : tabel z

nu/nv : Banyaknya ulangan pada setiap kelompok

N : Banyaknya sampel

Sumber: Ghozali (2006).











