

PENGUJIAN PENGARUH *Saccharomyces* TERPILIH TERHADAP INFEKSI *Salmonella*

D. GHOLIB, ISTIANA, TARMUDJI dan R. Z. AHMAD

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

ABSTRACT

Study the Effect of *Saccharomyces* Against *Salmonella* Infection

The purpose of the study is to obtain *S.cerevisiae* isolates which can be used as a probiotic for chickens. The study was conducted by means of invivo method using *S. cerevisiae* isolates which had been selected in the previous study. The treated chicken were grouped into 6 groups (A, B, C, D, E and F), each group consisted of 15 chickens. The doses of *S.cerevisiae* mixed with rice flour (107×10^6 CFU/g), were administered to each group: 0; 0; 1.5; 3.0; 1.5 and 3.0 g/kg of feed respectively, and *S. typhimurium* was administered orally (0.2 ml/chicken 10^7 CFU/ml) to B, E and F group a day after *S.cerevisiae* treatment each day for 5 days, and then each week until 4 weeks in old. On day 10th and 28th, samples were collected, 3 chickens from each group were killed and autopsied. Liver, intestines and caecum were collected for pathological and histopathological examination. Cultural processes in order to reisolate *S. typhimurium* and *S. cerevisiae* was accomplished. Microbial population in the caecum was counted by serial dilution method, and cultivated in Nutrient Agar. The results of the study showed that a dose of 1.5 g/kg of feed *S. cerevisiae* was better on increasing body weight gain (38–119) g compared to the other groups, although statistical analyzes was not significant. Effect of immunity of *S. cerevisiae* against *S. typhimurium* administration was not significant, but reisolation of *S. typhimurium* in the caecum more frequent in positif control group than treated groups. Reisolation of *S. cerevisiae* was more frequent in 3.0 g and 1.5 g *S. cerevisiae* treated groups.

Key words: *Saccharomyces*, *Salmonella*, chickens

PENDAHULUAN

Dewasa ini penggunaan antibiotik untuk memacu pertumbuhan bobot hidup ternak mulai dilarang, karena mempunyai dampak negatif terhadap konsumen. Sebagai alternatif penggantinya digunakan probiotik. Menurut FULLER (1992) dan KARPINSKA *et al.* (2001), probiotik adalah imbuhan pakan berupa mikroba hidup yang menguntungkan, dalam bidang peternakan penggunaan probiotik bermanfaat untuk kesehatan, produksi ternak dan pencegahan penyakit. MULDER (1996) mengemukakan bahwa penggunaan probiotik dapat dipertimbangkan untuk mengurangi penggunaan antibiotika dosis rendah yang umumnya digunakan untuk pencegahan suatu penyakit, sebab penggunaan antibiotika dalam dosis pencegahan tersebut, mempunyai efek negatif terhadap *Lactobacilli* yang merupakan bagian terbesar dari mikroflora aerobik saluran pencernaan dan bakteri penghasil asam laktat lain yang sangat rentan terhadap antibiotika. Selain itu penggunaan antibiotika yang terus menerus menyebabkan bakteri resisten terhadap antibiotika seta dapat menimbulkan residu di dalam organ dan jaringan hewan (SAHIDU dan LOKAPIRNASARI, 2002). Probiotik yang digunakan dapat berupa bacteria, cendawan atau campuran keduanya. Penggunaan cendawan sebagai probiotik dapat berupa khamir atau kapang. Serangkaian penelitian yang menggunakan *S. cerevisiae* (SC) sebagai imbuhan pakan dalam menyusun ransum ternak telah banyak dilaporkan. KOMPIANG (2002) telah

meneliti penggunaan ragi laut maupun *Saccharomyces cerevisiae* pada pakan ayam, hasilnya menunjukkan mempunyai potensi sebagai probiotik, untuk menggantikan fungsi antibiotik dalam perangsang pertumbuhan. Laporan lain dikemukakan oleh ISTIANA *et al.* (2001) bahwa telah diperoleh isolat lokal *S. cerevisiae* sebanyak 7 buah yang berasal dari tape singkong dan tape ketan. Setelah dilakukan seleksi potensi probiotik secara *in vitro*, menunjukkan empat isolat (57,1%) mampu membentuk zona hambatan pertumbuhan terhadap *Salmonella typhimurium* antara 1-2 mm. RATNANINGSIH (2000) telah meneliti penggunaan isolat lokal SC dan Bioplas dalam ransum domba yang pengaruhnya dapat meningkatkan pertambahan bobot badan dan menurunkan nisbah konsumsi ransum. Dalam penelitiannya SAHIDU dan LOKAPIRNASARI (2002) menggunakan *Effective Microorganism* (ME) yang terdiri dari campuran *Lactoacilblus* spp., *Streptomyces* spp., jamur fermentasi (*Aspergillus* spp.), ragi (*Saccharomyces* spp.), bakteri fotosintetik (*Rhodopseudomonas* sp.) yang diberikan pada ayam broiler untuk melihat efeknya terhadap pencernaan protein. Erb-O (1992) dan SAHA *et al.* (1999) meneliti kasus diare pada anak sapi dengan pemberian SC dapat mengurangi gejala penyakit. Laporan tersebut diperkuat oleh CZERUCKA *et.al.* (2000) bahwa SC strain *boulardi* dapat menghambat perlekatan *S.enterica* serovar *typhimurium*, enteritis dan enteropatogen *Escherichia coli* (EPEC) serta enterohaemorrhagi *E. coli* terhadap mukosa usus. Sementara itu, BRADLEY *et*

al. (1994) melaporkan bahwa penggunaan *S. cerevisiae* var. *boulardii* pada ayam, ditujukan untuk mengetahui perbaikan berat badan, memeriksa morfologi usus dengan mengukur jumlah sel - sel goblet per millimeter vilus. TEDESCO *et al.* (1994) mengemukakan penggunaan SC dalam pakan kelinci, yang berhasil mengurangi jumlah bakteri patogen dalam usus dan meningkatkan jumlah bakteri aerob dan anaerob yang menguntungkan. Laporan lain dari KUMPRECHT *et al.* (1994) bahwa aplikasi SC dan *Streptococcus faecium* pada ayam broiler dapat mengurangi jumlah *E. coli* dalam cecum sebesar 50%. Sementara itu, probiotik komersial Vitacanis® yang mengandung *S. cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Enterococcus faecium* dilaporkan dapat mencegah gangguan intestin pada anjing dan kucing. (MAIA *et al.*, 2001).

MATERI DAN METODE

Pada penelitian ini digunakan 90 ekor ayam umur satu hari (DOC), dengan bobot hidup awal (sebelum perlakuan) berkisar antara 72-77 g, ayam dibagi menjadi enam kelompok perlakuan: A, B, C, D, E, dan F. Sementara itu, isolat yang digunakan adalah *S. cerevisiae* yang berasal dari Kabupaten Cianjur dan Kuningan, yang merupakan hasil penelitian sebelumnya (ISTIYANA *et al.*, 2001)

Masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut:

- Kelompok kontrol negatif, hanya diberi pakan.
- Kelompok kontrol positif, tidak diberi *Saccharomyces cerevisiae*, dicekok dengan *S. typhimurium*.
- Kelompok, diberi *S. cerevisiae* dengan dosis 1,5 g/kg pakan
- Kelompok, diberi *S. cerevisiae* dengan dosis 3,0 g/kg pakan
- Kelompok, diberi *S. cerevisiae* dosis 1,5 g/kg pakan dan diuji tantang dengan *S. typhimurium*
- Kelompok, diberi *S. cerevisiae* dengan dosis 3,0 g/kg pakan dan diuji tantang dengan *S. typhimurium*.

S. cerevisiae dicampur dengan tepung beras ($10^7 \times 10^6$ CFU/g) diberikan setiap hari, mulai ayam umur empat hari sampai umur 28 hari. Sementara itu, untuk uji tantang dengan *S. typhimurium* dilakukan berdasarkan modifikasi metoda TELLEZ *et al.* (2001) secara oral dengan dosis 0,2 ml/ekor (10^7 CFU/ml) selama lima hari berturut - turut, yang dilakukan sehari setelah pemberian dosis SC, selanjutnya diberikan sekali seminggu sampai dengan minggu ke empat.

- Pengatan hasil penelitian dilakukan berdasarkan:

- Pertambahan bobot badan pada setiap kelompok perlakuan.
- Morbiditas dan mortalitas ayam. Untuk hewan yang mati ataupun sakit dilakukan pemeriksaan patologik dan histopatolog.
- Reisolasi bakteri *S. typhimurium* dan *S. cerevisiae* dari caecum, usus dan hati

Untuk reisolasi, dilakukan pengambilan sampel ayam dua kali yaitu umur 10 hari dan 28 hari. Untuk setiap pengambilan sampel dari masing - masing perlakuan diambil 3 ekor, maka jumlah sampel yang diamati seluruhnya 36 ekor. Masing - masing sampel ayam dinekropsi untuk diamati secara Patologi Anatomi dan diambil organ untuk pemeriksaan Histopatologi dan pemupukan kuman.

Spesimen berupa potongan organ hati dan usus dari masing-masing kelompok difiksasi ke dalam formalin netral buffer (BNF) 10%, lalu spesimen diperiksa secara rutin untuk pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE)

Untuk pemupukan dan reisolasi *S. typhimurium* dari ayam diambil organ usus, hati dan caecum, sedangkan untuk reisolasi *S. cerevisiae* dilakukan pemeriksaan terhadap usus. Untuk konfirmasi *S. typhimurium* dilakukan di laboratorium Enterobacteriaceae. Populasi mikroba (bacteria) di dalam sekum dihitung dengan cara pengenceran 1 g sekum di dalam Nutrient Broth (NB) secara berseri, dan ditanam pada media Nutrient Agar (NA).

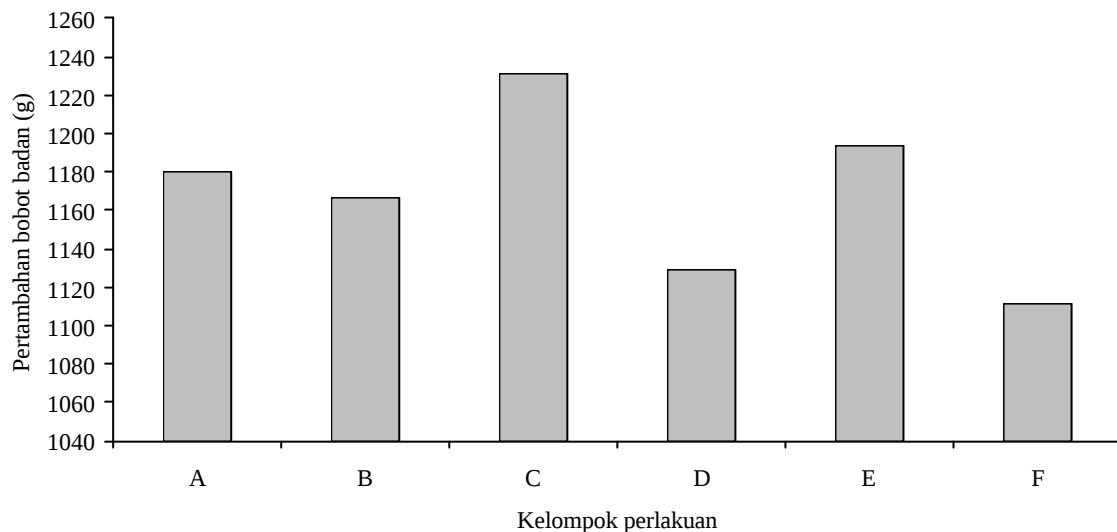
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertambahan bobot hidup

Rata-rata pertambahan bobot hidup ayam pada kelompok perlakuan A, B, C, D, E, F, selama 28 hari secara berurutan adalah: 1252,5 g; 1240 g; 1304 g; 1205,7 g; 1268,8 g dan 1186,7 g (Tabel 1.) Pertambahan bobot hidup tersebut tidak berbeda nyata ($P < 0,05$) antar kelompok perlakuan. Namun pada kelompok perlakuan C yang diberi *S. cerevisiae* dengan dosis 1,5 g/kg pakan cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya (Gbar 1.). Dalam laporan penelitiannya, KOMPIANG (2002) menggunakan SC dalam air minum sebanyak 5 ml/liter hasilnya menunjukkan adanya pengaruh terhadap bobot hidup ayam yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol AZHARI *et al* (2001) melaporkan hasil penelitiannya pada ayam kampung yang diberi probiotik "Effective Microorganism" (ME), 1,5 ml/kg pakan menunjukkan pertambahan bobot hidup, walaupun secara statistik tidak berbeda nyata.

Tabel 1. Rataan bobot hidup ayam awal (umur 3 hari), bobot akhir (28 hari) dan pertambahan bobot hidup selama perlakuan

Perlakuan kelompok	Bobot awal (g)	Bobot akhir (g)	Pertambahan bobot badan (g)
A	72,33	1252,5	1180,17
B	73,33	1240,0	1166,67
C	73,33	1304,4	1231,11
D	76,66	1205,7	1129,04
E	75,66	1268,8	1193,22
F	75,33	1186,6	1111,33



Gambar 1. Histog pertambahan bobot hidup ayam selama perlakuan

Morbiditas dan mortalitas

Dalam pengatan selama percobaan secara umum ayam-ayam yang diperlakukan nampak sehat. Namun menjelang berakhirnya masa percobaan, terdapat 3 ekor ayam yang mati, masing - masing dari kelompok A (Kontrol negatif), kelompok B (Kontrol positif) dan kelompok D (diberi SC 3 g/kg pakan). Sebelumnya satu ekor dari kelompok D ini telah memperlihatkan sakit.

Pada pemeriksaan patologi terhadap ayam-ayam yang dinekropsi pada hari ke-10, dari masing-masing kelompok perlakuan tidak memperlihatkan kelainan yang spesifik. Memang ada beberapa yang memperlihatkan peradangan ringan pada usus, namun setelah diperiksa secara histopatologi, tidak ada kelainan yang berarti.

Pada hari ke 28 ayam yang mati dari kelompok B (kontrol positif), secara PA ditemukan bercak-bercak putih pada hati dan enteritis kataralis pada usus yang diduga karena pengaruh dari infeksi *Salmonella* (Salmonellosis).

Berikutnya pada organ hati, usus dan caecum dari kelompok B yang dilakukan isolasi kembali terhadap bakteri *S. typhimurium*, ternyata hasilnya positif dan secara histopatologi juga ditemukan fokal hepatitis dan enteritis. Hal ini menunjukkan bahwa kelainan organ tersebut karena infeksi *S. typhimurium*. Tetapi bukan karena kuman itu saja sebagai penyebab kematian, melainkan diduga akibat penyakit Gumboro. Hal ini terlihat bahwa pada bursa Fabricii terjadi perdarahan, nekrosis dan infiltrasi sel - sel radang pada folikelnya. TABBU (2000), menyatakan bahwa limfosit pada folikel segera diganti oleh heterofil, hancuran sel dan sel-sel retikuloendotial mengalami hiperplasia. Di samping itu, akan terlihat juga nekrosis, makrofage dan fi-broblast. Kelainan yang sama yaitu bursitis juga ditemukan pada dua ekor ayam mati yang lainnya (dari Kel. A dan D).

Pada kelompok (A dan D), dari reisolasi kuman, tidak ditemukan adanya *S. typhimurium*. Hal ini karena kedua kelompok tersebut tidak diinfeksi oleh kuman. Jadi penyebab kematian ayam perlakuan A dan D ini diduga oleh penyakit Gumboro, seperti gbaran pada kelompok B.

Reisolasi *S. typhimurium* dan *S. cerevisie*

Pada Tabel 2 tercantum hasil reisolasi dari *S. typhimurium* dan *S. cerevisie* pada ayam umur 10 hari dan 28 hari. Pada Tabel tersebut terlihat bahwa, dari kelompok A (kontrol Negatif) tidak ditemukan kuman *S. typhimurium* dan *S. cerevisie*. Sementara itu, pada kel.B s/d F dapat diisolasi kembali kuman *S.*

typhimurium dan *S. cerevisie*., meskipun tidak selalu ditemukan pada setiap pengambilan sampel pada umur 10 dan 28 hari.

Populasi mikroba di dalam sekum tampak paling tinggi pada kelompok yang diberi 3.0 g *S. cerevisiae* tanpa uji tantang oleh *S. typhimurium* (Tabel 3).

Tabel 2. Hasil reisolasi *S. typhimurium* dari caecum, usus, hati dan *S.cerevisie* dari usus ayam pada masing-masing perlakuan.

Perlakuan	Organ	Reisolasi			
		<i>S. typhimurium</i>		<i>S. cerevisie</i>	
		10 hari	28 hari	10 hari	28 hari
A	Caecum	0/3*	0/3		
	Usus	0/3	0/3	0/3	0/3
	Hati	0/3	0/3		
B	Caecum	0/3	2/3		
	Usus	0/3	2/3	0/3	0/3
	Hati	0/3	3/3		
C	Caecum	0/3	0/3		
	Usus	0/3	0/3	2/3	0/3
	Hati	0/3	0/3		
D	Caecum	0/3	0/3		
	Usus	0/3	0/3	3/3	3/3
	Hati	0/3	0/3		
E	Caecum	0/3	2/3		
	Usus	0/3	0/3	1/3	1/3
	Hati	0/3	1/3		
F	Caecum	0/3	1/3		
	Usus	1/3	0/3	0/3	0/3
	Hati	0/3	1/3		

* 0/3 : dari 3 ekor ayam tidak ditemukan *S. typhimurium*

- : tidak dilakukan reisolasi

Tabel 3. Jumlah mikroba/bacteria dari sekum pada pengambilan sampel ayam umur 10 dan 28 hari (koloni/g sampel).

Perlakuan	Umur (hari)	Umur (hari)
	10	28
KN (Kontrol Negatif)	148 x 10 ³	12661 x 10 ³
KP (Kontrol Positif)	102 x 10 ³	362 x 10 ³
<i>S. cerevisiae</i> (1,5 g)	228 x 10 ³	14008 x 10 ³
<i>S. cerevisiae</i> (3.0 g)	TT	TT
<i>S. cerevisiae</i> (1,5 g + <i>S. typhimurium</i>)	221 X 10 ³	442 X 10 ³
<i>S. cerevisiae</i> (3.0 g + <i>S. typhimurium</i>)	808 X 10 ³	TT

TT : Tidak terhitung

KESIMPULAN

1. Pemberian *Saccharomyces cerevisiae* dengan dosis 1,5 g/kg pakan menimbulkan pertambahan bobot hidup lebih tinggi diantara kelompok perlakuan dan kontrol.
2. Pemberian *S. cerevisiae* dengan dosis 3.0 g/kg pakan dengan atau tanpa uji tantang oleh *S. typhimurium* menimbulkan pertambahan bobot hidup lebih rendah diantara perlakuan dan kontrol.
3. Terisolasinya kembali baik *S. cerevisiae* maupun *S. typhimurium*, menunjukkan agen mikroba yang diberikan kepada ayam percobaan tersebut adalah hidup dan mengalami proses interaksi di dalam saluran pencernaan.
4. Populasi mikroba di dalam sekum bertambah terutama pada kelompok yang diberi 3.0 g *S. cerevisiae* tanpa uji tantang *S. typhimurium*.

SARAN

Penelitian ini adalah baru pertama kali dilakukan terutama di bidang Mikologi, Balitvet. Maka dari itu, hal - hal yang akan menjadi pertimbangan untuk kelanjutan penelitian ini sangat diharapkan dimasa mendatang.

DAFTAR PUSTAKA

- AZHARI, SUGITO dan FAKHRURRAZI. 2001. Pengaruh Supplementasi Probiotik melalui Pakan terhadap Performansi Produksi Ayam Kampung. *J. Medika Vet.* 1(1): 4-6.
- BRADLEY, G.L.; F.S. THOMAS and I.T. KAREN. 1994. The Effects of Supplementing Diets with *S. cerevisiae* var. *boulardii* on Male Poult Performance And Ileal Morphology. *Poult. Sci.* 73: 1776-1770.
- CORRIER, D.E.; D.J. NISBET; C.M. SCANLAN; A.G. HOLLISTER; D.J. CALDWELL; L.A. THOMAS; B.M. HARGIS; T. TOMKINS and J.R. DELOACH. 1995. Treatment of Commercial Broiler Chickens with a Characterized culture of Cecal Bacteria to Reduce Salmonellae Colonization. *Poult. Sci.* 74 (59): 1093-1101.
- CZERUCKA, D.S.; DAHAN; B. MOGABI; B. ROSSI and RAMPAL. 2000. *Saccharomyces boulardii* Preserves the Barrier Function and Modulates the Signal Transduction Pathway Induced in Enteropathogenic *Escherichia coli* Infected T 84 Cell. *Infect. and Immun.*, 68 (10): 5998-6004.
- ERB-O 1992. Prevention of Diarrhea in the Calf with Live Yeast. Thesis Ludwig Maximillians-Universitat. Munich, Germany.
- ISTIANA, D. GHOLIB dan S. HASTIONO. 2001. Potensi *Saccharomyces cerevisiae* Sebagai Probiotik. Laporan Hasil Penelitian. Balai Penelitian Veteriner Bogor 2001.
- KUMPRECHT, I., P. ZOBAC, Z. GASNAREK, and E. ROBOSOVA. 1994. The effect of continuous application of probiotics preparation based on *Saccharomyces cerevisiae* var *elipsoideus* and *Streptococcus faecium* C-68 (SF-68) on chicken broilers yield. *Zivocisna Vyroba* 39(6): 491-503.
- KOMPIANG, I.P. 2002. Pengaruh Ragi *Saccharomyces cerevisiae* dan Ragi laut sebagai Pakan Imbuhan Probiotik terhadap Kinerja Unggas. *JITV* 7(1): 18-21.
- MAIA O.B., R. DUARTE, A.M. SILVA, D.C. CARA; and J.R. NICOLI. 2001. Evaluation of the components of a commercial probiotic in gnotobiotic mice experimentally challenged with *Salmonella enteritica* subsp. *enterica* ser. *Typhimurium*. *Vet. Mikrob.* 79(2):183-189.
- RATNANINGSIH, A. 2000. Pengaruh Pemberian Probiotik *Saccharomyces cerevisiae* dan Bioplus Pada Ransum Ternak Domba Terhadap Konsumsi Bahan Kering, Kecernaan dan Konversi Ransum (*In Vivo*). Skripsi Fak. Peternakan. UNPAD Sumedang.
- SAHA, S. K., M.K. SENANI, PADHI, B. B. SHONE dan S. P. S. AHLAWAT. 1999. Microbial Manipulation of Rumen Fermentation Using *Saccharomyces cerevisiae* as Probiotic. *Current Sci.*, 77: 696-697.
- SAHIDU, A.M. dan LOKAPIRNASARI. 2002. Penggunaan "Effective Microorganism" Terhadap Kecernaan Protein pada Ayam Pedaging. *Media Kedokteran Hewan* 18 (2): 101-103.
- SURAWICZ, C.M.; G.W. ELMER; and P. SPEELMAN. 1989. Prevention of Antibiotic Associated Diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: A Prospective Study. *GASTROLOGY*. 96:981- 988.
- TABBU, C. R. 2000. Infectious Bursal Disease. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Vol.1:318-344. Kanisius. Yogyakarta.
- TEDESCO, D., C. CASTROVILLI, G. CONI, D. BAROLI, V. VOLL'ORTO, and F. POLIDORI. 1994. Use of probiotics in the feeding of meat rabbits: Effects on performance and intestinal microorganisms. *Rivista di-Coniglicoltura* 31(10): 41-46.
- TELLEZ, G. V., V. M. PETRONE, MESCOCIA, T. Y. MORISHITA; A.C.W. COBB and L. VILLASENOV 2001. Evaluation of Avian-Specific Probiotic and *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium* and *S. heidelberg*. Specific Antibodies on Cecal Colonization and organ invasion of *Salmonella enteritidis* in Broiler. *J Food Protec.* 64 (3): 287-291

DISKUSI

Pertanyaan:

1. *Kemungkinan–kemungkinan probiotik yang lain terhadap infeksi salmonella typhimurium selain Saccharomyces? Mana yang paling baik untuk pengujian tersebut?*
2. *Darimana isolatnya? Bagaimana aktifitasnya terhadap salmonella? Bagaiman mekanisme penghambatannya?*

Jawaban:

1. *Belum banyak secara komersial. Bakteri untuk probiotik: Campuran Saccharomyces, bakteri, kapang, Stretomyces. Pengujian mana yang terbaik, belum diketahui dengan pasti. Sedang ditelusuri.*
2. *Sampel tape singkong yang berasal dari Cianjur dan Kuningan. Diuji dengan SDA secara in vitro untuk dilihat adanya hambatan pertumbuhan. Mekanisme: ada metabolik dari saccharomyces untuk pertumbuhan kuman yang memproduksi enzim proteinase untuk selanjutnya diaduk dengan toxin clostridium sehingga tidak aktif (tidak terjadi diare)*