

Vol. 11 No. 2 Juli 2007

ISSN 1858-4489

B16

Jurnal Medis Veteriner Indonesia

(Indonesian Journal of Veterinary Medicine)

(Dahulu Media Veteriner)

**Fakultas Kedokteran Hewan
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

PENGARUH PROBIOTIK TERHADAP FAGOSITOSIS SEL POLIMORFONUKLEAR AYAM BROILER

EFFECT OF PROBIOTICS ADMINISTRATION ON PHAGOCYTOSIS OF POLYMORPHONUCLEAR CELLS OF BROILER CHICKEN

Wiwin Winarsih¹, Bambang Pontjo Priosoeryanto¹, Bibiana W. Lay²,
I Wayan Teguh Wibawan², I Putu Kompiang³

¹Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan – IPB

²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, FKH-IPB

³Balai Penelitian Ternak Ciawi Bogor

ABSTRACT

The research was conducted in order to study the effect of probiotics administration on phagocytosis of polymorphonuclear cell of broiler chicken. One hundred broilers were divided into 5 groups, (A) the control group (not given probiotic and antibiotic), (B) received feed containing zinc bacitracin, (C) received probiotic *Bacillus apiarius*, (D) received probiotic *B. coagulans*, and (E) received probiotic BM (contained *B. apiarius*, *B. coagulans*, *B. alvei*, *B. circulans*, *B. brevis* and *B. laterosporus*). The probiotic were supplemented in drinking water (10^9 CFU/litre). Blood samples were collected at 6 week of age. Polymorphonuclear cells were separated from blood and further investigated for activity and capacity of phagocytosis and clearance of *Salmonella enteritidis* and *S. typhimurium*. This study showed that probiotics administration increased activity and capacity of phagocytosis of polymorphonuclear cell. As well as enhanced the Salmonellas clearance of polymorphonuclear cell.

Keywords : probiotic, phagocytosis, clearance, polymorphonuclear cell, *Salmonella*

PENDAHULUAN

Probiotik berasal dari bahasa Yunani yang berarti untuk kehidupan (Fuller, 1992; Schrezenmeir dan de Vrese, 2001). Menurut Collins dan Gibson (1999) dan Roberfroid (2000), probiotik adalah makanan tambahan yang mengandung mikroorganisme hidup yang memberikan keuntungan bagi inang dengan meningkatkan keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan. Sanders (2000) menyatakan bahwa probiotik adalah mikroorganisme hidup yang dapat memperbaiki kesehatan inang apabila dikonsumsi dalam jumlah yang tepat.

Sumber probiotik dapat berupa bakteri atau kapang yang berasal dari mikroorganisme saluran pencernaan hewan (Lopez, 2000). Beberapa bakteri yang telah digunakan sebagai probiotik yaitu *Lactobacillus* dan *Bacillus*

subtilis, kapang dan jamur yang dipergunakan sebagai probiotik adalah *Saccharomyces cerevisiae* dan *Aspergillus oryzae* (Lopez, 2000). Probiotik dapat mengandung satu atau beberapa strain mikroorganisme dan dapat diberikan dalam bentuk cairan, tepung, tablet atau pasta, baik secara langsung peroral atau dicampur dalam pakan atau air minum. Probiotik dapat mempertahankan keseimbangan mikroorganisme menguntungkan dan mengeleminasi mikroorganisme patogen melalui *competitive exclusion* (Pascual *et al.*, 1999).

Mekanisme kerja mikroba probiotik adalah pertama, dapat menghasilkan asam, sehingga pH menjadi rendah. Keadaan ini tidak menguntungkan bagi mikroorganisme patogen. Kedua, beberapa mikroba probiotik dapat menghasilkan bahan antimikroba (bakteriosin) yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba

lain yang tidak menguntungkan. Ketiga, mikroba probiotik dapat berkembang biak di dalam saluran pencernaan dan berkompetisi dengan mikroba patogen. Keempat, mikroba probiotik berkompetisi dengan mikroba patogen untuk berikatan dengan reseptor yang sama (Lopez, 2000; Harish dan Varghese, 2006).

Probiotik juga mampu bertindak sebagai *imunomodulator* (Conway dan Wang, 2000; Fuller, 1992; Isolauri *et al.*, 2001). Pemberian probiotik yang mengandung *Lactobacillus acidophilus* dan *L. salivarius* pada mencit dapat menstimulasi sistem pertahanan non-spesifik dan probiotik tersebut dapat meningkatkan kapasitas sel makrofag dan sel lekosit polimorfonuklear (PMN) dalam memfagosit bakteri *S. typhimurium* secara *in vitro*. Menurut Isolauri *et al.* (2001) pemberian lactobacilli dapat meningkatkan pertahanan non-spesifik inang terhadap bakteri patogen. Beberapa bakteri penghasil asam laktat dapat menginduksi pelepasan sitokin seperti *tumor necrosis factor* dan interleukin 6. Pemberian probiotik juga dapat mengurangi pemakaian antibiotik (Conway dan Wang, 2000).

Probiotik telah banyak dipergunakan sebagai pemacu pertumbuhan pada hewan dan umumnya probiotik yang mengandung *Lactobacillus*. *Lactobacillus* diketahui dapat meningkatkan ketahanan inang terhadap infeksi bakteri patogen (Conway dan Wang, 2000; Fuller, 1992). Salah satu bakteri patogen yang sering menimbulkan masalah pada peternakan unggas adalah *Salmonella*. Infeksi *Salmonella* pada ayam sering bersifat subklinis, sehingga merupakan salah satu sumber penularan salmonellosis pada manusia (Gast, 2003; Humprey, 1998; Craven dan Williams, 1997). Oleh karena itu pengendalian terutama pencegahan salmonellosis pada unggas sangat penting.

Penggunaan probiotik yang mengandung *Bacillus* sp. pada ternak unggas masih sangat sedikit dan perannya sebagai imunomodulator belum diketahui. Dalam rangka mengetahui peran probiotik *Bacillus* sp. sebagai imunomodulator dan prospeknya dalam pengendalian salmonellosis, maka pada penelitian ini dilakukan uji kemampuan fagositosis dan *clearance* sel polimorfonuklear terhadap bakteri *Salmonella enteritidis* dan *S. typhimurium* secara *in vitro* pada ayam broiler yang diberi probiotik.

BAHAN DAN METODE

Pada penelitian ini dipergunakan ayam pedaging berumur 1 hari sebanyak 100 ekor yang dipelihara selama 6 minggu. Ayam dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol tanpa probiotik dan antibiotik (A), kelompok B (tanpa probiotik dan diberi antibiotik zinc bacitrasin), kelompok C (probiotik isolat *Bacillus apiarius*), kelompok D (probiotik isolat *B. coagulans*) dan kelompok E (probiotik BM). BM adalah probiotik yang mengandung campuran *Bacillus* sp. yaitu *B. apiarius*, *B. brevis*, *B. coagulans*, *B. lateroporus*, *B. circulans* dan *B. alvei*.

Probiotik dan Antibiotik

Probiotik yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah :

- Isolat *B. apiarius* 10^9 CFU (*colony forming unit*)/ml
- Isolat *B. coagulans* 10^9 CFU/ml
- Campuran 6 spesies *Bacillus* sp. 10^9 CFU/ml

Probiotik diperoleh dari Dr. I Putu Kompiang, APU., peneliti di Balai Penelitian Ternak, Ciawi Bogor. Probiotik berbentuk cairan dan diberikan setiap hari dengan dosis 2 ml/liter air minum. Probiotik diberikan pada ayam secara peroral yang dicampur dengan air minum. Antibiotik yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah zinc bacitrasin. Antibiotik diberikan dengan dicampur dengan pakan dengan dosis 0,1 g/kg pakan. Pakan yang digunakan adalah pakan broiler komersial.

Bakteri

Bakteri yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella enteritidis* dan *S. typhimurium* yang berasal dari ayam. Isolat bakteri *Salmonella* diperoleh dari Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor. Bakteri ditumbuhkan pada media selektif *Salmonella shigella* (SS) dan XLD agar. Untuk identifikasi dilakukan pewarnaan Gram dan uji biokimia (Krieg dan Holt, 1984 ; Sneath *et al.*, 1986; Williams *et al.*, 1980).

Uji Fagositosis Sel Heterofil (PMN)

Uji fagositosis dilakukan untuk mengetahui aktivitas dan kapasitas fagositosis oleh sel lekosit polimorfonuklear (PMN/heterofil). Sampel darah ayam dari setiap kelompok diambil dari vena *brachialis*. Ke dalam tabung

reaksi diisikan 5 ml larutan Ficoll Faque® dingin, kemudian secara perlahan-lahan ke dalam tabung tersebut ditambahkan 5 ml darah ayam dari setiap kelompok sehingga terbentuk 2 lapisan (Andreasen dan Latimer, 1989). Campuran darah dan ficoll disentrifus (1500g, 15 menit), kemudian supernatan dibuang. Ke dalam endapan yang terdiri atas eritrosit dan PMN ditambahkan larutan 0,87% NH₄Cl dingin (pH 7,2) sambil dikocok kuat hingga terjadi hemolisis sempurna. Suspensi disentrifus dan dicuci 3 kali hingga endapan PMN terbebas dari eritrosit. Endapan PMN disuspensikan dalam media RPMI 1640. Uji viabilitas sel PMN dilakukan menggunakan larutan 0,4% tripan blue dalam larutan 0,81% NaCl dan 0,06% Na₂HPO₄ steril, dan penghitungan lekosit menggunakan hemositometer.

Penentuan jumlah sel bakteri yang digunakan untuk uji fagositosis dilakukan menggunakan spektrofotometer (λ 620 nm, transmisi 10%). Suspensi bakteri dicampur dengan suspensi PMN dengan perbandingan 1000 : 1 (Wibawan dan Laemmler, 1994), kemudian campuran diinkubasikan selama 30 dan 60 menit pada suhu 37° C.

Untuk mengetahui aktivitas dan kapasitas fagositosis PMN terhadap bakteri, dibuat preparat ulas dan diwarnai dengan Giemsa. Aktivitas fagositosis adalah jumlah sel PMN yang menelan bakteri per 100 PMN. Kapasitas fagositosis adalah jumlah bakteri yang ditelan oleh sel PMN yang dihitung pada 50 PMN yang menunjukkan aktivitas fagositosis, kemudian dirata-ratakan (Wibawan dan Laemmler, 1994).

Uji Kemampuan Clearance Sel PMN

Kemampuan *clearance* (eliminasi bakteri) sel PMN dihitung menurut metode (Anderson et al., 1984). Campuran bakteri *Salmonella* dan sel PMN yang telah diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 37°C. Kemudian disentrifus (500g) selama 10 menit sehingga terbentuk pelet dan supernatan.

Untuk mengetahui jumlah CFU bakteri *Salmonella* yang tidak ditelan oleh PMN, supernatan ditumbuhkan pada media SS agar, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, sedangkan pelet yang mengandung sel PMN yang menelan bakteri *Salmonella* disuspensikan dan diinkubasikan kembali selama 30 menit pada suhu 37°C.

Setelah diinkubasi kembali selama 30 menit, ke dalam suspensi tersebut ditambahkan

aquades yang mengandung 0,01% gelatin dan dikocok menggunakan vortex selama 60 detik. Selanjutnya ditumbuhkan pada media SS agar selama 24 jam dan CFU dihitung. Persentase bakteri *Salmonella* yang ditelan dan mati oleh sel PMN dihitung menurut rumus Anderson et al., 1984.

Persentase *Salmonella* yang dimakan PMN pada 30 menit dihitung dengan rumus :

$$\frac{N_0 - N_1}{N_0} \times 100$$

N₀ : Jumlah CFU awal

N₁ : Jumlah CFU dalam supernatan pada 30 menit

Persentase *Salmonella* yang mati oleh PMN pada 60 menit dihitung dengan rumus :

$$\frac{N_2 - N_1}{N_1} \times 100$$

N₁ : Jumlah CFU dalam supernatan pada 30 menit

N₂ : Jumlah CFU pada pelet pada 60 menit

Analisis Data

Data kuantitatif yang diperoleh dalam penelitian ini diuji dengan analisis sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji multiple Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Steel dan Torrie, 1991). Data selanjutnya dianalisis menggunakan software SAS release 8,2.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan fagositosis sel heterofil (PMN) yang diamati pada penelitian ini adalah aktivitas dan kapasitas fagositosis. Sel PMN pada kelompok yang diberi probiotik (kelompok C, D dan E) nyata (P<0,05) mempunyai aktivitas fagositosis terhadap *S. enteritidis* dan *S. typhimurium* yang lebih tinggi dibandingkan kelompok A dan B baik pada 30 menit maupun 60 menit (Tabel 1). Persentase sel PMN yang aktif memfagosit *S. enteritidis* dan *S. typhimurium* pada kelompok yang diberi antibiotik (B) tidak berbeda nyata (P>0,05) dengan kontrol (A) baik pada 30 menit maupun 60 menit, akan tetapi berbeda nyata (P<0,05) dengan kelompok yang diberi probiotik (kelompok C, D dan E).

Aktivitas fagositosis PMN terhadap *S. enteritidis* dan *S. typhimurium* pada 60 menit mengalami peningkatan yang nyata ($P<0,05$) dibandingkan dengan aktivitas pada 30 menit yang terjadi pada semua kelompok, baik kontrol (A) maupun kelompok yang diberi antibiotik (B) dan probiotik (C, D, E) seperti tercantum pada Tabel 1. Jumlah sel PMN yang aktif memfagosit *S. enteritidis* dan *S. typhimurium* (aktivitas fagositosis) pada kelompok C, D dan E pada 60 menit nyata lebih tinggi daripada kontrol dan kelompok yang diberi antibiotik ($P<0,05$).

Sel PMN pada kelompok yang diberi probiotik *B. apiarius* (C), *B. coagulans* (D) dan BM (E) nyata mempunyai kemampuan kapasitas fagositosis *S. enteritidis* dan *S. typhimurium* yang lebih tinggi ($P<0,05$) dibandingkan kelompok kontrol (A) dan kelompok yang diberi antibiotik (B) baik pada 30 menit maupun 60 menit (Tabel 2). Kapasitas fagositosis sel PMN terhadap *S. enteritidis* dan *S. typhimurium* pada kelompok yang diberi antibiotik (B) tidak berbeda nyata dengan kontrol (A) baik pada 30 menit maupun 60 menit ($P>0,05$), akan tetapi berbeda nyata ($P<0,05$) dengan kelompok yang diberi probiotik (C, D dan E). Kapasitas fagosit PMN pada 60 menit mengalami peningkatan nyata

($P<0,05$) pada semua kelompok baik kelompok kontrol (A), kelompok yang diberi antibiotik (B) maupun kelompok yang diberi probiotik (C, D dan E).

Hasil penelitian ini mendukung hasil penelitian yang dilaporkan Kato *et al.* (1983) dalam Perdigon *et al.* (2001) yaitu pemberian probiotik yang mengandung *Lactobacillus casei* dapat meningkatkan kapasitas fagositosis sel makrofag. Perdigon *et al.* (2001) juga menyatakan bahwa pemberian *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dapat meningkatkan aktivitas makrofag dengan cara melepaskan enzim lisosom seperti β glukoronidase dan β galaktosidase.

Menurut Isolauri *et al.* (2001) probiotik dapat meningkatkan pertahanan tubuh inang. Pemberian *Lactobacillus casei* dan *L. bulgaricus* dapat meningkatkan aktivitas fagositosis pada mencit. Fagositosis merupakan sistem pertahanan tubuh non-spesifik. Aktivitas dan kapasitas fagositosis menggambarkan kemampuan sel-sel pertahanan dalam mengeliminir antigen atau sel/jaringan yang rusak atau mati. Fagositosis dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kesehatan inang dan stres.

Tabel 1. Aktivitas fagositosis sel PMN (%)

Kelompok	<i>S. enteritidis</i>		<i>S. typhimurium</i>	
	30 menit	60 menit	30 menit	60 menit
A	69,0 ± 6,1 ^{Bb}	81,1 ± 8,5 ^{Ba}	66,0 ± 5,1 ^{Bb}	77,0 ± 7,2 ^{Ba}
B	68,3 ± 5,9 ^{Bb}	86,2 ± 8,1 ^{Ba}	62,2 ± 8,3 ^{Bb}	81,4 ± 6,8 ^{Ba}
C	89,0 ± 7,1 ^{Ab}	92,3 ± 7,8 ^{Aa}	86,0 ± 5,7 ^{Ab}	93,0 ± 7,3 ^{Aa}
D	89,2 ± 5,7 ^{Ab}	94,8 ± 6,5 ^{Aa}	89,2 ± 2,5 ^{Ab}	93,8 ± 8,6 ^{Aa}
E	91,0 ± 2,7 ^{Ab}	95,0 ± 5,2 ^{Aa}	88,6 ± 2,2 ^{Ab}	94,1 ± 6,2 ^{Aa}

Keterangan : Huruf besar superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p<0,05$)
Huruf kecil superskrip yang berbeda dalam baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$)

Tabel 2. Kapasitas fagositosis sel PMN (jumlah bakteri/PMN)

Kelompok	<i>S. enteritidis</i>		<i>S. typhimurium</i>	
	30 menit	60 menit	30menit	60 menit
A	8,64 ± 2,2 ^{Bb}	10,89 ± 3,5 ^{Ba}	6,44 ± 2,0 ^{Cb}	9,24 ± 4,2 ^{Ba}
B	8,86 ± 3,8 ^{Bb}	9,68 ± 2,8 ^{Ba}	7,74 ± 3,4 ^{Cb}	9,78 ± 2,6 ^{Ba}
C	11,58 ± 5,5 ^{ABb}	13,84 ± 1,5 ^{ABa}	10,12 ± 4,8 ^{Bb}	14,62 ± 6,3 ^{Aa}
D	11,84 ± 2,1 ^{ABb}	16,72 ± 5,8 ^{Aa}	13,46 ± 3,5 ^{Ab}	15,02 ± 6,2 ^{Aa}
E	12,10 ± 4,5 ^{Ab}	15,90 ± 1,8 ^{Aa}	11,99 ± 5,4 ^{ABb}	15,18 ± 4,1 ^{Aa}

Keterangan : Huruf besar superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p<0,05$)
Huruf kecil superskrip yang berbeda dalam baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$)

Tabel 3. Kemampuan *clearance* sel PMN

Kelompok	Bakteri yang ditelan pada 30 menit (%)		Bakteri yang mati pada 60 menit (%)	
	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. typhimurium</i>
A	76,00 ± 5,1 ^b	80,75 ± 9,8 ^b	83,22 ± 8,2 ^b	75,46 ± 5,8 ^b
B	79,00 ± 9,2 ^b	77,75 ± 6,2 ^b	86,15 ± 6,7 ^b	74,76 ± 6,2 ^b
C	96,10 ± 8,1 ^a	98,40 ± 5,1 ^a	93,43 ± 4,1 ^a	88,73 ± 5,3 ^a
D	97,40 ± 6,8 ^a	98,75 ± 3,8 ^a	94,73 ± 6,5 ^a	93,63 ± 4,7 ^a
E	96,20 ± 5,5 ^a	99,08 ± 5,2 ^a	93,00 ± 7,8 ^a	89,63 ± 3,2 ^a

Keterangan : Huruf superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Kemampuan sel PMN kelompok probiotik (C, D, E) dalam memakan/menelan dan mematikan (*clearance*) *S. enteritidis* dan *S. typhimurium* pada 30 dan 60 menit nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan kelompok antibiotik (B) dan kontrol (A) seperti tercantum pada Tabel 3. Kemampuan *clearance* kelompok B yang diberi antibiotik tidak berbeda nyata dengan kontrol (A) baik dalam memakan maupun mematikan *S. enteritidis* dan *S. typhimurium* ($P > 0,05$).

Pemberian probiotik (*B. apiarius*, *B. coagulans* dan BM) pada dapat meningkatkan kemampuan sel PMN dalam mematikan *Salmonella*. Hasil dalam penelitian ini mendukung penelitian yang dilaporkan Perdigon et al. (1994) yaitu pemberian *L. acidophilus* pada mencit menginduksi sistem pertahanan dalam menghadapi infeksi *Salmonella* dengan meningkatkan immunoglobulin A (IgA) dan Ig M, sitokin dan meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag. Dengan kata lain pemberian probiotik menjadikan inang lebih siap dalam menghadapi infeksi.

Makrofag dan heterofil merupakan bagian utama dari respon imun bawaan (*innate*) pada unggas (Stabler et al., 1994). Heterofil merupakan sel yang ekuivalen dengan netrofil pada mammalia, mempunyai inti bersegmen dan sitoplasmanya bergranula serta mempunyai kemampuan fagositosis yang tinggi terutama terhadap mikroorganisme.

Menurut Stabler et al. (1994) heterofil mempunyai kemampuan dalam mematikan 68% *S. enteritidis* pada 60 menit dan 95% pada 120 menit. Pada unggas yang terinfeksi *Salmonella*, sel PMN merupakan sel pertahanan yang pertama datang kebagian yang mengalami peradangan kemudian diikuti oleh makrofag. Infiltrasi sel radang pada tempat invasi merupakan tahap penting dalam mengatasi infeksi *S. enteritidis*. Respon akibat peradangan adalah migrasi sel-sel pertahanan dari pembuluh

darah ketempat peradangan yang ditandai dengan akumulasi PMN dan makrofag. PMN mampu mematikan *Salmonella* baik dengan opsonisasi maupun tanpa opsonisasi. Pada keadaan tanpa opsonisasi PMN mampu mematikan 68% *S. enteritidis* dan 70% pada keadaan opsonisasi. Kemampuan makrofag dalam mematikan *S. enteritidis* apabila tanpa opsonisasi sangat rendah yaitu 7% dan apabila diopsonisasi maka kemampuan meningkat menjadi 71%. Oleh karena pada tahap awal infeksi *Salmonella* di usus belum terbentuk antibodi yang dapat membantu sel-sel radang dalam melakukan fagositosis dan mematikan bakteri, maka kemampuan sel radang untuk mematikan bakteri tanpa opsonisasi sangat penting.

Menurut Erickson dan Hubbard (2000) peningkatan sistem pertahanan non-spesifik diantaranya fagositosis terjadi akibat adanya LPS (lipopolisakarida) atau peptidoglikan (PG) atau keduanya yang dilepaskan secara terus menerus oleh bakteri. Bakteri Gram positif dan negatif normal ada dalam saluran pencernaan. PG merupakan komponen dinding sel bakteri Gram positif dan negatif dan LPS komponen dinding sel bakteri Gram negatif. Sejumlah kecil LPS dan PG dilepaskan secara terus menerus dan berinteraksi dengan permukaan sel inang, sehingga mengaktifkan sel makrofag, sel retikuloendotelial (RES) dan netrofil untuk melepaskan berbagai mediator. LPS dapat menstimulasi makrofag untuk menghasilkan berbagai mediator termasuk sitokin seperti tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin 1 (IL-1), IL-6, IL-8 dan IL-12, elastase, prostaglandin dan oksigen reaktif. Mencit *germfree* yang diberi bakteri asam laktat *Lactobacillus* selama 7 hari dapat meningkatkan kapasitas makrofagnya dalam memfagosit *Escherichia coli* (*E. coli*). Hal ini disebabkan bakteri *Lactobacillus* tersebut dapat menginduksi sitokin.

Probiotik dapat menjaga keseimbangan mikroorganisme dalam usus (Famularo et al.

1997 dalam Fuller, 1997; Isolauri *et al.*, 2001). Ketidakseimbangan mikrobiota endogenous usus dapat terjadi pada kejadian penyakit pada hewan dan manusia. Keberadaan mikrobiota dalam usus sangat penting dalam melindungi inang terhadap kolonisasi patogen. Permukaan mukosa saluran pencernaan secara terus menerus terpapar oleh antigen oleh karena itu kemampuan dan efektifitas respon pertahanan mukosa merupakan hal yang penting dalam menjaga kesehatan inang.

Pada penelitian ini pemberian probiotik *Bacillus* sp, baik diberikan secara tunggal maupun kombinasi dapat meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel PMN terhadap *Salmonella* (*S. enteritidis* dan *S. typhimurium*). Pemberian probiotik tersebut juga dapat meningkatkan kemampuan *clearance* sel PMN terhadap *Salmonella*, sedangkan antibiotik growth promoter (bacitrasin) tidak dapat meningkatkan kemampuan fagositosis dan *clearance* sel PMN. Dari hasil penelitian ini probiotik *Bacillus* memberikan prospek yang baik dalam meningkatkan pertahanan ayam terhadap bakteri patogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Andreasen BC, Latimer KS. 1989. Separation of avian heterophils from blood using ficoll-hypaque discontinuous gradients. *Avian Dis*, 33: 163-167.
- Anderson LC, Rush HG, Glorioso JC. 1984. Strain differences in the susceptibility and resistance of *Pasteurella multocida* to phagocytosis and killing rabbit polymorphonuclear neutrophils. *Am J Vet Res*, 45: 1193-1198.
- Collins MD, Gibson GR. 1999. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr*, 69: 1052S – 1057S
- Conway PL, Wang X. 2000. Specifically targeted probiotics can reduce antibiotics usage in animal production. *Asian-Aust J Anim Sci*, supp, 13: 358-361.
- Craven SE, Williams DS. 1997. Inhibition of *Salmonella typhimurium* attachment to chicken cecal mucus by intestinal isolates of enterobacteriaceae and Lactobacilli. *Avian Dis*, 41: 548-558.
- Erickson KL, Hubbard NE. 2000. Probiotic immunomodulation in health and disease. *J Nutr*, 130: 403S-409S.
- Fuller R. 1992. Probiotic the scientific basis. 1st Ed. Chapman and Hall. London, New York.
- Fuller R. 1997. Probiotics 2. Applications and practical aspects. Chapman and Hall. London, New York.
- Gast RK. 2003. Paratyphoid infection. *Di dalam Saif YM et al.* (editors). Diseases of Poultry, 11th Ed. Iowa State University Press, Iowa USA. hlm : 583 - 613.
- Harish K, Varghese T. 2006. Probiotics in humans – evidence based review. *Calicut Medical Journal* 4 (4) : e3.
- Humphrey T. 1998. Important and relevant attributes of the *Salmonella* organism. *Proceeding of International symposium on food-borne Salmonella in poultry*. Baltimore Maryland. Pp : 43-55.
- Isolauri S, Sutas Y, Kankaanpaa P, Arvilommi H, Salminen S. 2001. Probiotics: effect on immunity. *Am J Clinical Nutrition* 73: 444S-450S.
- Krieg NR, Holt JG. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. Williams and Wilkins. Baltimore.
- Lopez J. 2000. Probiotics in animal nutrition. *Asian-Aust J Anim Sci*, 13, special issue: 12-26.
- Pascual M, Hugas M, Badiola JI, Monfort JM, Garriga M. 1999. *Lactobacillus salivarius* CTC2197 prevents *Salmonella enteritidis* colonization in chickens. *Applied and Environ. Microbiology*. 65 (11): 4981-4986.
- Perdigon G, Rachid M, DeBudeguer Mv, Valdez JC. 1994. Effect yogurt feeding on the small and large intestine associated lymphoid cells in mice. *J Dairy Res*. 61: 553-562.
- Perdigon G, Fuller R, Raya R. 2001. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Curr Issue in Intestinal Microbiol*. 2: 27-42.
- Roberfroid MB. 2000. Prebiotics, probiotics: are they functional food? *Am J Clin Nutr*, 71: 1682S-1687S.
- Sanders ME. 2000. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr*, 130: 384S-390S.
- Schrezenmeir J, deVrese M. 2001. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. *Am J Clin Nutr*, 73: 361S-364S.
- Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME. 1986. Bergey's Manual of Systematic

- Bacteriology. Vol 2. Williams and Wilkins. Baltimore.
- Stabler JG, McCormick TW, Powell KC, Kogut MH. 1994. Avian heterophils and monocytes: phagocytic and bactericidal activities against *Salmonella enteritidis*. *Vet Microb*, 38: 293-305.
- Steel RG, Torrie HJ. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistik. PT Gramedia Utama, Jakarta.
- Wibawan IWT, Laemmler C. 1994. Relationship between encapsulation and various properties of *Streptococcus suis*. *J Vet Med*, B-41: 453 – 459.
- Williams JE, Mallinson ET, Snoeyenbos GH. 1980. Salmonellosis and arizonosis. *Di dalam* Isolation and identification of avian pathogens. 2nd Ed. Hitchner SB, Domeruth CH.
- Purchase HG, Williams JE (Editors). American Association of Avian Pathologist. College Station. Texas. Pp: 1-8.