

# **KHAMIR PROBIOTIK DAN PREBIOTIK MANNAN- OLIGOSAKARIDA UNTUK MENGENDALIKAN *Salmonella Typhimurium* SECARA *IN VIVO***

**RAHAYU WULAN**



**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2025**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.





## PERNYATAAN MENGENAI DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi dengan judul “Khamir Probiotik dan Prebiotik Mannan-Oligosakarida untuk Mengendalikan *Salmonella* Typhimurium secara *In Vivo*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Maret 2025

Rahayu Wulan  
G361190068

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## RINGKASAN

RAHAYU WULAN. Khamir Probiotik dan Prebiotik Mannan-Oligosakarida untuk Mengendalikan *Salmonella* Typhimurium secara *In Vivo*. Dibimbing oleh ANJA MERYANDINI, RIKA INDRI ASTUTI, YAYA RUKAYADI, dan SRI ESTUNINGSIH.

*Salmonella* Typhimurium (ST) dapat menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan manusia yang mengakibatkan gastroenteritis ringan hingga akut yang ditandai dengan diare, infeksi sistemik, bahkan kematian. Pengendalian ST menggunakan antibiotik dinilai kurang efektif karena sifat resistensi dari ST serta dapat menyebabkan disbiosis mikrobiota usus. Alternatif lain pengendalian infeksi ST dapat dilakukan dengan pemberian probiotik dan prebiotik. Probiotik berbasis khamir masih jarang dieksplorasi dalam penelitian *in vivo*, kecuali khamir probiotik *Saccharomyces boulardii*. Khamir probiotik *Pichia kudriavzevii* 2P10 mampu berkoagregasi dengan ST sehingga mampu menghalangi penempelan ST pada dinding usus. Selain itu, prebiotik mannan-oligosakarida (MOS) juga diketahui dapat menempel pada reseptor fimbriae ST sehingga dapat mencegah penempelan ST pada dinding usus. Penelitian ini bertujuan menguji efektivitas pemberian probiotik *P. kudriavzevii* 2P10, prebiotik MOS, dan kombinasinya terhadap kesehatan saluran pencernaan dan keragaman mikrobiota usus tikus jantan *Sprague Dawley* (SD) yang diinfeksi ST.

Sebelum diberikan pada tikus, MOS diuji secara *in vitro* pengaruhnya terhadap bakteri asam laktat (BAL) *Lactobacillus plantarum* NHC3 dan ST. Metode penelitian yang dilakukan yaitu pemberian perlakuan probiotik khamir *P. kudriavzevii* 2P10 1 ml  $10^8$  CFU/mL, mannan-oligosakarida (MOS) 5% pada pakan, dan kombinasinya setiap hari selama 15 hari, kemudian diinfeksi di hari ke-16 dan ditunggu hingga 3 hari setelah infeksi. Terdapat perlakuan tanpa infeksi ST (CONTROL, PRO, MOS, PMOS) dan dengan infeksi ST 1 ml  $10^8$  CFU/mL (CONTROL.ST, PRO.ST, MOS.ST, dan PMOS.ST), kemudian dievaluasi parameter kesehatan saluran pencernaan yang berupa total khamir, *Salmonella*, dan BAL pada ileum, sekum, dan feses, analisis hematologi, histomorfometrik ileum, histologi ileum dan sekum, dan analisis komposisi mikrobiota sekum tikus dengan metode *next-generation sequencing*.

Hasil penelitian menunjukkan laju pertumbuhan *P. kudriavzevii* 2P10 (0,43 sel/jam) pada media *in vitro*, lebih rendah dibandingkan ST (0,58 sel/jam). MOS 1% secara *in vitro* juga dapat digunakan untuk pertumbuhan *L. plantarum* NHC3 (8,28 log<sub>10</sub> CFU/mL). MOS 0,5% juga dapat berkoagregasi dengan ST sebesar 53,16% setelah 4 jam inkubasi. Penurunan bobot badan tikus terjadi pada PMOS.ST, PMOS, MOS.ST, CONTROL, PRO, dan PRO.ST. Analisis hematologi mengindikasikan infeksi ST mengakibatkan penurunan eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit yang dikaitkan dengan kejadian anemia yang disebabkan oleh produksi hemolisin oleh ST. Perlakuan ST dapat meningkatkan produksi leukosit, namun tidak terjadi pada MOS.ST, PMOS, dan PRO.ST. Jumlah limfosit pada PRO dan MOS juga lebih rendah dibandingkan dengan CONTROL.

ST lebih banyak ditemukan menginfeksi di ileum (58%) dibandingkan dengan sekum (48%), kemudian ST dapat dikeluarkan melalui feses (65%). Pada

ileum, PRO.ST dan PMOS.ST memiliki persentase tikus terinfeksi yang lebih rendah dibandingkan dengan CONTROL.ST dan MOS. ST. Perlakuan MOS.ST mempunyai 100% fesesnya terinfeksi ST, MOS mampu berkoagregasi dengan ST kemudian mengeluarkannya bersama feses. Penelitian ini membuktikan bahwa *P. kudriavzevii* 2P10 mampu hidup di ileum, sekum, dan ditemukan juga di feses tikus. *P. kudriavzevii* 2P10 lebih banyak ditemukan di sekum dibandingkan dengan ileum, dengan tertinggi terdapat pada PMOS (6,09 log<sub>10</sub> CFU/g) dan PRO.ST (5,57 log<sub>10</sub> CFU/g). Pada PRO.ST dan PMOS.ST ditemukan *P. kudriavzevii* 2P10 pada ileumnya, namun pada PRO dan PMOS tidak. Hal tersebut mengindikasikan *P. kudriavzevii* 2P10 mampu berkoegrasi dengan ST pada ileum tikus yang diinfeksi ST. BAL juga lebih banyak ditemukan di sekum dibandingkan dengan di ileum, karena di ileum masih mengandung enzim pencernaan yang bahaya bagi mikrob. Total BAL tertinggi terdapat pada perlakuan MOS.ST yaitu di sekum (9,22 log<sub>10</sub> CFU/g), feses (8,79 log<sub>10</sub> CFU/g), dan ileum (8,59 log<sub>10</sub> CFU/g). MOS dikenal sebagai substrat selektif bagi BAL.

Analisis mikrobiota sekum tikus mengungkapkan bahwa PRO dan PMOS mempunyai jumlah OTU (1686) tertinggi, dan juga dikonfirmasi dengan PRO dan PRO.ST mempunyai indeks *alpha-diversity* Shannon (7,602 dan 7,403) yang tertinggi juga. Analisis *beta-diversity* berdasarkan *Principle Coordinate Analysis* (PCoA) menunjukkan PRO.ST dan CONTROL berada di plot yang sama yang mengindikasikan bahwa mikrobiota keduanya memiliki kemiripan struktur mikrobiota normal. Analisis *beta-diversity* berdasarkan klusterisasi atau pengelompokan struktur mikrobiota menunjukkan PRO, MOS, dan PRO.ST berada di kluster yang sama dan terpisah dengan CONTROL.ST yang mengalami disbiosis.

Sepuluh Filum dengan kelimpahan relatif tertinggi yaitu Firmicutes (>65%), Verrucomicrobiota, Proteobacteria, Actinobacteriota, Bacteriodota, Acidobacteriota, Chloroflexi, Gemmatimonadota, Euryarchaeota dan Desulfobacterota. Pemberian *P. kudriavzevii* 2P10, MOS, dan PMOS, termasuk infeksi *S. Typhimurium*, menurunkan rasio Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) pada mikrobiota sekum tikus dibandingkan dengan CONTROL (36,37). Hal ini menunjukkan bahwa penurunan rasio F/B berfungsi sebagai penanda infeksi ST, dengan CONTROL.ST memiliki rasio F/B terendah (10,81). Akan tetapi, MOS (28,32), PRO (26,84), dan PRO.ST (23,57) mampu mencegah penurunan drastis rasio F/B karena peningkatan *Bacteroides* yang berlebih dianggap menjadi indikasi terjadinya disbiosis akibat infeksi ST. Kelimpahan tertinggi penyusun mikrobiota pada tingkat famili adalah Lachnospiraceae, sedangkan pada tingkat genus adalah *Lactobacillus*. Infeksi ST mengakibatkan nekrosis dan deskuamasi epitel pada ileum dan sekum yang terjadi pada CONTROL.ST, namun hal ini tidak terlihat pada perlakuan lain. Penelitian ini memperoleh kebaruan yaitu probiotik khamir *P. kudriavzevii* 2P10 lebih dapat menstimulasi kesehatan usus, mencegah disbiosis mikrobiota usus, dan mencegah keparahan infeksi ST pada tikus SD jantan dibandingkan dengan MOS dan kombinasinya. Unsur kebaruan tersebut dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan tentang probiotik berbasis khamir yang dapat dikembangkan dalam bidang kesehatan.

Kata kunci: Gastroenteritis, kesehatan usus, mikrobiota usus, probiotik non-*Saccharomyces*, tikus



## SUMMARY

RAHAYU WULAN. Probiotic Yeast and Mannan-Oligosaccharide Prebiotics to Control *Salmonella* Typhimurium *In Vivo*. Supervised by ANJA MERYANDINI, RIKA INDRI ASTUTI, YAYA RUKAYADI, and SRI ESTUNINGSIH.

*Salmonella* Typhimurium (ST) can infect the human digestive tract, resulting in mild to acute gastroenteritis, which is characterized by diarrhea, systemic infections, and even death. Controlling ST using antibiotics is considered less effective because it is a multidrug-resistant bacterium. Additionally, the type and dosage of antibiotics can trigger dysbiosis in the intestinal microbiota. Another alternative for controlling ST infections is the administration of probiotics and prebiotics. Yeast-based probiotics have rarely been explored *in vivo*, except for the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii*. The probiotic yeast *Pichia kudriavzevii* 2P10 co-aggregated with ST prevented ST attachment to the intestinal wall. In addition, prebiotic mannan-oligosaccharides (MOS) attach to fimbriae receptors on ST to prevent ST attachment. Therefore, this study aimed to evaluate the effectiveness of the probiotic *P. kudriavzevii* 2P10, prebiotic MOS, and their combination on the health of the digestive tract and diversity of the intestinal microbiota of male Sprague Dawley (SD) rats infected with ST.

Before administration to rats, MOS was tested *in vitro* for its effect on the growth of lactic acid bacteria (LAB) (*Lactobacillus plantarum* NHC3) and ST. The research method involved the administration of probiotic yeast *P. kudriavzevii* 2P10 (1 ml  $10^8$  CFU/mL), 5% mannan-oligosaccharides (MOS) in feed, and their combination every day for 15 days. The fish were infected on the 16<sup>th</sup> day and were left for three days after infection. There were treatments without ST infection (CONTROL, PRO, MOS, PMOS) and with ST infection 1 ml  $10^8$  CFU/mL (CONTROL.ST, PRO.ST, MOS.ST, and PMOS.ST), and the parameters of digestive tract health were evaluated in the form of total yeast and LAB in the ileum, caecum, and feces; hematology; ileum histomorphometrics; ileum and caecum histology; and analysis of the composition of rat caecum microbiota using the next-generation sequencing method.

The *in vitro* growth rate of *P. kudriavzevii* 2P10 (0.43 cells/h) *in vitro* media was lower than that of ST (0.58 cells/h). MOS 1% *in vitro* could also grow *L. plantarum* NHC3 (8.28 log<sub>10</sub> CFU/g). The 0.5% MOS medium coagulated with ST by 53.16% after 4 h of incubation. A decrease in the body weight of rats after treatment was observed in the PMOS.ST, PMOS, MOS.ST, CONTROL, PRO, and PRO groups. ST groups. Hematological analysis indicated that ST infection decreased erythrocyte, hemoglobin, and hematocrit levels, which are associated with anemia caused by ST hemolysin production. ST treatment increased leukocyte production in rats but not in the MOS.ST, PMOS, and PRO.ST groups. The numbers of PRO and MOS lymphocytes were also lower than those in the CONTROL group.

ST was more commonly found in the ileum (58%) than in the ileum (48%) and was excreted through feces (65%). In the ileum, PRO.ST and PMOS.ST had a lower percentage of infected rats than CONTROL.ST and MOS. ST. PMOS treatment resulted in the lowest percentage of ST-infected mice in the cecum (20%). MOS.ST treatment had 100% of its feces infected with ST, and MOS was

@Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

able to coagulate and excrete ST with feces. This study proved that *P. kudriavzevii* 2P10 can live in the ileum and cecum and is also found in rat feces. *P. kudriavzevii* 2P10 is found more in the cecum compared to the ileum, with the highest in PMOS (6.09 log<sub>10</sub> CFU/g) and PRO.ST (5.57 log<sub>10</sub> CFU/g). In PRO.ST and PMOS.ST, *P. kudriavzevii* 2P10 was found in the ileum, indicating that the probiotic yeast could co-aggregate with ST in the ileum of ST-infected rats, as probiotic yeast was not found in PRO and PMOS. Similar to probiotic yeast, more LAB were found in the cecum than in the ileum, which still contains many digestive enzymes that are harmful to the microbes. The highest total LAB was found in the MOS.ST prebiotic treatment in the cecum (9.22 log<sub>10</sub> CFU/g), feces (8.79 log<sub>10</sub> CFU/g), and ileum (8.59 log<sub>10</sub> CFU/g). Prebiotics are known to be selective substrates for LAB.

Rat cecum microbiota analysis revealed that PRO and PMOS had the highest number of OTUs (1686), which was also confirmed by PRO and PROST having the highest Shannon alpha diversity index (7.602 and 7.403, respectively). Beta-diversity analysis based on principal component analysis (PCoA) showed that PRO.ST and CONTROL were on the same plot, indicating that both microbiota were similar to the normal microbiota. Beta-diversity analysis based on microbiota structure clustering showed that PRO, MOS, and PRO.ST were in the same cluster and separated from CONTROL.ST, which experienced dysbiosis.

The ten phyla with the highest relative abundances were Firmicutes, Verrucomicrobiota, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidota, Acidobacteria, Chloroflexi, Gemmatimonadota, Euryarchaeota, and Desulfobacterota, with Firmicutes dominating (>65%). Administration of *P. kudriavzevii* 2P10, MOS, and PMOS, including *S. Typhimurium* infection, decreased the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the rat cecum microbiota compared to that in the CONTROL group (36,37). This suggests that a decrease in the Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) ratio is a marker of *Salmonella* Typhimurium infection, and CONTROL.ST had the lowest F/B ratio (10.81). However, MOS (28.32), PRO (26.84), and PRO ST (23.57) prevented a drastic decrease in the F/B ratio because an increase in Bacteroides is considered an indication of gut microbiota dysbiosis due to Proteobacteria infection. Lachnospiraceae and Lactobacillus had the highest relative abundance at the family and genus levels, respectively. ST infection resulted in desquamation of the ileal and cecal epithelium, which occurred in the CONTROL.ST group but not in the CONTROL, PRO, PRO.ST, PMOS, and PMOS.ST groups. The novelty of this study is that the yeast probiotic *P. kudriavzevii* 2P10 can further stimulate intestinal health, prevent gut microbiota dysbiosis, and avoid the severity of ST infection in male SD rats compared to MOS and its combination. This novelty will add to the scientific knowledge of yeast-based probiotics that can be developed in the health sector.

**Keywords:** Gastroenteritis, gut microbiota, ileal health, non-*Saccharomyces* probiotic, rats



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025  
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

*Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.*

*Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.*

**KHAMIR PROBIOTIK DAN PREBIOTIK MANNAN-  
OLIGOSAKARIDA UNTUK MENGENDALIKAN  
*Salmonella Typhimurium* SECARA *IN VIVO***

**RAHAYU WULAN**

Disertasi  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Doktor pada  
Program Studi Mikrobiologi

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2025**



@Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Penguji Luar Komisi Pembimbing pada Ujian Tertutup Disertasi:

- 1 Prof. Dr. Ir. I Komang G. Wiryawan
- 2 Dr. Ainissya Fitri, S.Pt., M.Si.

Promotor Luar Komisi Pembimbing pada Sidang Promosi Terbuka Disertasi:

- 1 Prof. Dr. Ir. I Komang G. Wiryawan
- 2 Dr. Ainissya Fitri, S.Pt., M.Si.

Judul Disertasi: Khamir Probiotik dan Prebiotik Mannan-Oligosakarida untuk  
Mengendalikan *Salmonella* Typhimurium secara *In Vivo*

Nama : Rahayu Wulan  
NIM : G361190068

Disetujui oleh

Pembimbing 1:  
Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S.

Pembimbing 2:  
Dr. Rika Indri Astuti, S.Si., M.Si.

Pembimbing 3:  
Assoc. Prof. Dr. Yaya Rukayadi, M.Si.

Pembimbing 4:  
Dr. drh. Sri Estuningsih, M.Si, A.P.Vet.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:  
Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S.  
NIP 196203271987032001

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam:  
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si.  
NIP 197807232007011001



Tanggal Ujian:  
6 Februari 2025

Tanggal Lulus:

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada *Allah subhanaahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan disertasi dengan judul “**Khamir Probiotik dan Prebiotik Mannan-oligosakarida untuk Mengendalikan *Salmonella Typhimurium* secara *In Vivo***”. Penulis mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S. selaku ketua komisi pembimbing yang selalu memberikan arahan selama proses penyelesaian disertasi ini.
2. Dr. Rika Indri Astuti, S.Si. M.Si., Assoc. Prof. Dr. Yaya Rukayadi M.Si., dan Dr. drh. Sri Estuningsih, M.Si, A.P.Vet. selaku anggota komisi pembimbing yang telah banyak memberi bimbingan dan saran selama proses penyelesaian disertasi ini.
3. Prof. Dr. Ir. I Komang G. Wiryawan (Guru Besar Fakultas Peternakan IPB) selaku penguji luar komisi pembimbing pada ujian kualifikasi lisan, ujian tertutup, dan ujian promosi terbuka, serta Dr. Ainissya Fitri, S.Pt., M. Si. (Peneliti Badan Riset dan Inovasi Nasional, BRIN) selaku penguji luar komisi pada ujian tertutup dan ujian promosi terbuka.
4. Prof. Dr. Triadiati, M.Si. selaku perwakilan ketua program sudi, Dr. rer. nat. Rahadian Pratama, S.Si, M.Si. selaku penguji luar komisi pembimbing pada ujian kualifikasi lisan, Prof. Dr. Iman Rusmana, M.Si. selaku moderator kolokium, Dr. drh. Anita Esfandiari, M.Si. selaku moderator seminar hasil, serta Dr. Akhmad Faqih, S.Si. dan Dr. Zaenal Abidin, S.Si., M.Agr. selaku pimpinan sidang tertutup dan sidang promosi terbuka.
5. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Riset dan Teknologi yang telah memberikan dana penelitian melalui skema beasiswa Program Magister menuju Doktor untuk Sarjana Unggul (PMDSU) Batch 4.
6. Seluruh dosen dan tenaga kependidikan Program Studi Mikrobiologi IPB yang telah memberikan ilmu dan pelayanan terbaiknya.
7. Seluruh staf dan laboran di Laboratorium Bioprospeksi Mikrob Pusat Bioteknologi IPB, Laboratorium Mikrobiologi di Biologi IPB, Laboratorium Divisi Patologi SKHB IPB, dan Rumah Sakit Hewan dan Pendidikan IPB yang telah memberi izin penelitian dan membantu selama pengumpulan data.
8. Rekan seperjuangan S3 Mikrobiologi 2019 (Dr. Rury Eryna Putri, Dr. Hermawaty Abubakar, Dr. Debi Arivo, dan Dr. Irma Melati) dan seluruh *awardee* PMDSU Batch IV IPB atas semangat dan motivasinya ketika kuliah.
9. Seluruh rekan penelitian PAU periode 2019-2022 di Laboratorium Bioprospeksi Mikrob, Pusat Bioteknologi IPB yang membantu penelitian.
10. Secara khusus, ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada orang tua yaitu Ibu Tukiyah, Bapak Suyoto, serta saudara Mbak Emi dan Mbak Erna yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya selama proses penyelesaian disertasi.

Semoga disertasi ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Maret 2025

Rahayu Wulan

## DAFTAR ISI

|                                                                             |      |
|-----------------------------------------------------------------------------|------|
| DAFTAR ISI                                                                  | xi   |
| DAFTAR TABEL                                                                | xiii |
| DAFTAR GAMBAR                                                               | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN                                                             | xv   |
| I PENDAHULUAN                                                               | 1    |
| 1.1 Latar Belakang                                                          | 1    |
| 1.2 Rumusan Masalah                                                         | 3    |
| 1.3 Tujuan                                                                  | 3    |
| 1.4 Hipotesis                                                               | 3    |
| 1.5 Manfaat                                                                 | 4    |
| 1.6 Ruang Lingkup                                                           | 4    |
| 1.7 Kebaruan ( <i>Novelty</i> )                                             | 5    |
| II TINJAUAN PUSTAKA                                                         | 6    |
| 2.1 <i>Salmonella</i> Typhimurium                                           | 6    |
| 2.2 Khamir Probiotik                                                        | 9    |
| 2.3 Prebiotik Mannan-Oligosakarida (MOS)                                    | 14   |
| 2.4 Tikus sebagai Hewan Model                                               | 17   |
| 2.5 Saluran Pencernaan                                                      | 22   |
| 2.6 Profil Darah (Hematologi)                                               | 25   |
| 2.7 Hubungan Mikrobiota Usus dengan <i>Salmonella</i> Typhimurium           | 26   |
| 2.8 <i>Next-Generation Sequencing</i>                                       | 29   |
| III METODE                                                                  | 37   |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian                                             | 37   |
| 3.2 Alat dan Bahan                                                          | 37   |
| 3.3 Prosedur Kerja                                                          | 37   |
| 3.4 Analisis data                                                           | 46   |
| IV HASIL                                                                    | 47   |
| 4.1 Kurva Pertumbuhan <i>P. kudriavzevii</i> 2P10 dan <i>S. Typhimurium</i> | 47   |
| 4.2 Viabilitas Bakteri Asam Laktat pada Media MOS secara <i>in vitro</i>    | 49   |
| 4.3 Koagregasi <i>Salmonella</i> Typhimurium dengan Prebiotik MOS           | 50   |
| 4.4 Uji <i>In Vitro</i> Pertumbuhan <i>S. Typhimurium</i> pada Media MOS    | 51   |
| 4.5 Bobot badan Tikus                                                       | 51   |
| 4.6 Analisis Hematologi Darah Tikus                                         | 51   |
| 4.7 Total <i>Salmonella</i> Pada Saluran Pencernaan Tikus                   | 53   |
| 4.8 Total Khamir Pada Saluran Pencernaan Tikus                              | 54   |
| 4.9 Total Bakteri Asam Laktat Saluran Pencernaan Tikus                      | 55   |
| 4.10 Indeks Keragaman <i>Alpha-Diversity</i> Mikrobiota Sekum Tikus         | 56   |
| 4.11 <i>Beta-Diversity</i> Mikrobiota Sekum Tikus                           | 57   |
| 4.12 Profil Komunitas Mikrobiota Sekum Tikus pada Tingkat Filum             | 58   |
| 4.13 Kelimpahan Relatif Bakteri Sekum pada Tingkat Famili dan Genus         | 60   |
| 4.14 Kerapatan Villi Usus Tikus                                             | 62   |
| 4.15 Histomorfometrik Ileum Tikus                                           | 62   |

|      |                                                                                                                              |     |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.16 | Histopatologi Ileum dan Sekum Tikus                                                                                          | 63  |
| V    | PEMBAHASAN                                                                                                                   | 66  |
| 5.1  | Pertumbuhan <i>S. Typhimurium</i> dan <i>P. kudriavzevii</i> 2P10 <i>In Vitro</i>                                            | 66  |
| 5.2  | MOS sebagai Media Pertumbuhan BAL dan <i>S. Typhimurium</i>                                                                  | 67  |
| 5.3  | Pengaruh Pemberian <i>P. kudriavzevii</i> 2P10 dan MOS terhadap Bobot Badan Tikus                                            | 68  |
| 5.4  | Pengaruh <i>P. kudriavzevii</i> 2P10 dan MOS terhadap Hematologi Tikus                                                       | 69  |
| 5.5  | Total <i>Salmonella</i> , Khamir, dan BAL pada Saluran Pencernaan Tikus Diberi Perlakuan <i>P. kudriavzevii</i> 2P10 dan MOS | 70  |
| 5.6  | Perlakuan Probiotik Khamir dan Prebiotik MOS Menstimulasi Pertumbuhan Mikrobiota Usus Tikus                                  | 71  |
| 5.7  | Probiotik Khamir dan Prebiotik Memperbaiki Histomorfometrik dan Histopatologi Usus Tikus                                     | 76  |
| 5.8  | Pembahasan Umum                                                                                                              | 78  |
| VI   | SIMPULAN DAN SARAN                                                                                                           | 84  |
| 6.1  | Simpulan                                                                                                                     | 84  |
| 6.2  | Saran                                                                                                                        | 84  |
|      | DAFTAR PUSTAKA                                                                                                               | 85  |
|      | LAMPIRAN                                                                                                                     | 101 |
|      | RIWAYAT HIDUP                                                                                                                | 106 |

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## DAFTAR TABEL

|    |                                                                                                                                                                    |    |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1  | Beberapa penelitian <i>in vitro</i> probiotik <i>P. kudriavzevii</i>                                                                                               | 11 |
| 2  | Karakteristik pada galur tikus yang berbeda (Čoklo <i>et al.</i> 2020)                                                                                             | 18 |
| 3  | Mikrobiota pada gastrointestinal tikus menurut (Li <i>et al.</i> 2017) dan (Nagpal <i>et al.</i> 2018) dirangkum oleh (Čoklo <i>et al.</i> 2020)                   | 21 |
| 4  | Perbandingan anatomi saluran pencernaan, mencit, tikus, dan manusia                                                                                                | 22 |
| 5  | Panjang dan diameter saluran usus pada tikus (Vdoviaková <i>et al.</i> 2016)                                                                                       | 23 |
| 6  | Teknik dalam mengkarakterisasi mikrobiota usus (Fraher <i>et al.</i> 2012)                                                                                         | 32 |
| 7  | Keuntungan dan mekanisme <i>sequencer</i> (a), komponen dan biaya <i>sequencer</i> (b), dan penerapan ((c) pada berbagai <i>sequencer</i> (Liu <i>et al.</i> 2012) | 33 |
| 8  | Kelompok tikus jantan <i>Sprague-Dawley</i> pada perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda                                                                    | 41 |
| 9  | Perbandingan pertumbuhan khamir <i>P. kudriavzevii</i> 2P10 pada media cair YPD dan bakteri <i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028 media cair MH                         | 49 |
| 10 | Viabilitas <i>Lactobacillus plantarum</i> NHC6 pada berbagai media prebiotik                                                                                       | 49 |
| 11 | Nilai koagregasi <i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028 dengan MOS 0,5% selama 24 jam                                                                                    | 50 |
| 12 | Pertumbuhan <i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028 pada media LB dan LB prebiotik MOS 0,5%                                                                       | 51 |
| 13 | Tingkat pertumbuhan bobot badan tikus pada perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda                                                                          | 51 |
| 14 | Sel darah merah, hemoglobin, trombosit, dan hematokrit darah tikus SD pada hari terakhir perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda                            | 52 |
| 15 | Parameter hematologi yang terkait dengan sistem imun tikus SD pada hari terakhir perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda                                    | 53 |
| 16 | Perbandingan jumlah <i>Salmonella</i> di ileum, sekum, dan feses tikus SD pada perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda                                      | 54 |
| 17 | Jumlah OTU (97% <i>similarity</i> ) dan <i>alpha diversity</i> pada bakteri mikrobiota sekum tikus dengan perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda           | 57 |
| 18 | Rasio Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) tikus jantan <i>Sprague Dawley</i> pada perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda                                        | 59 |
| 19 | Kelimpahan relatif mikrobiota sekum tikus jantan <i>Sprague Dawley</i> yang diberi perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda                                  | 60 |
| 20 | Histomorfometrik ileum tikus SD yang diberi perlakuan probiotik dan prebiotik                                                                                      | 63 |

## DAFTAR GAMBAR

|   |                                                                                       |   |
|---|---------------------------------------------------------------------------------------|---|
| 1 | Bagan alir penelitian                                                                 | 4 |
| 2 | Sejarah evolusi dan filogenetik dan spesivitas inang <i>Salmonella</i> (Gal-Mor 2018) | 6 |



|    |                                                                                                                                                                                                                       |    |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3  | Model patogenesis <i>S. Typhimurium</i> (Fàbrega dan Vila 2013)                                                                                                                                                       | 8  |
| 4  | Morfologi <i>Pichia kudriavzevii</i> (Wulan <i>et al.</i> 2021)                                                                                                                                                       | 10 |
| 5  | Morfologi dinding sel khamir/ <i>yeast cell wall</i> (YCW), MOS dan uji adhesi yang diamati dengan SEM (Xu <i>et al.</i> 2017)                                                                                        | 12 |
| 6  | Struktur dinding sel khamir dan strategi anti- <i>adherence</i> oleh produk turunan dinding sel khamir <i>S. cerevisiae</i> dengan bakteri (Elisa <i>et al.</i> 2018).                                                | 13 |
| 7  | Bio-MOS (Alltech, USA) yang telah disaring menjadi ukuran 80 mesh (dokumentasi pribadi) dan mekanisme pemblokiran pelekatan bakteri oleh MOS untuk menghambat kolonisasi bakteri ke inang (Spring <i>et al.</i> 2015) | 15 |
| 8  | Skema manfaat kesehatan prebiotik dan sifat bioaktifnya dalam modulasi imun (Jana <i>et al.</i> 2021)                                                                                                                 | 16 |
| 9  | Tikus albino ( <i>Rattus norvegicus</i> ) galur <i>Sprague Dawley</i> (sumber: <a href="https://www.taconic.com/pdfs/sprague-dawley-rat.pdf">https://www.taconic.com/pdfs/sprague-dawley-rat.pdf</a> )                | 19 |
| 10 | Perbandingan anatomi saluran pencernaan: A. manusia, B. Tikus                                                                                                                                                         | 23 |
| 11 | Rongga perut tikus dengan penampakan ventral, A. duodenum, B. jejunum, C. kolon, D. sekum, E. <i>processus vermiformis</i> , dan F. Hati (Vdoviaková <i>et al.</i> 2016)                                              | 23 |
| 12 | <i>S. boulardii</i> melindungi usus besar mencit terhadap lesi <i>S. Typhimurium</i> (Martins <i>et al.</i> 2010)                                                                                                     | 24 |
| 13 | Asidifikasi <i>Bacteroides</i> terhadap <i>Salmonella</i> (Jacobson <i>et al.</i> 2018)                                                                                                                               | 28 |
| 14 | <i>S. Typhimurium</i> mengatasi resistensi kolonisasi yang dimediasi mikrobiota di saluran usus (Anderson dan Kendall 2017)                                                                                           | 29 |
| 15 | Skema gen 16S rRNA dan target primer, serta peta insiden yang menunjukkan bakteri yang ditemukan pada tingkat famili dan genus (Barb <i>et al.</i> 2016)                                                              | 30 |
| 16 | Skema pemrosesan sampel untuk NGS (Alekseyev <i>et al.</i> 2018)                                                                                                                                                      | 35 |
| 17 | Pengukuran empat parameter histomorfometrik villi ileum                                                                                                                                                               | 44 |
| 18 | Alur prosedur preparasi DNA dan sekuensing                                                                                                                                                                            | 45 |
| 19 | Analisis data hasil sekuensing                                                                                                                                                                                        | 45 |
| 20 | Kurva pertumbuhan <i>P. kudriavzevii</i> 2P10 yang ditumbuhkan pada media YPD cair dan suhu 28 °C: A) Berdasarkan jumlah sel, B) Berdasarkan nilai <i>optical density</i> (OD <sub>600</sub> )                        | 47 |
| 21 | Kurva pertumbuhan bakteri <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028 pada media Mueller-Hinton cair dan suhu 37 °C: A) berdasarkan jumlah sel dan B) Berdasarkan nilai <i>optical density</i> (OD <sub>600</sub> )      | 48 |
| 22 | Koagregasi <i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028 dengan MOS 0,5% selama waktu inkubasi: A) 0 jam, B) 2 jam, C) 24 jam, D) 48 jam                                                                                           | 50 |
| 23 | Total <i>Pichia kudriavzevii</i> 2P10 pada ileum, sekum, dan feses tikus SD dengan perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda di media <i>yeast peptone dextrose</i> (YPD)                                        | 55 |
| 24 | Total bakteri asam laktat (BAL) pada ileum, sekum, dan feses tikus SD dengan perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda di media <i>de Mann Rogosa and Sharpe</i> (MRS)                                           | 56 |
| 25 | <i>Principle coordinate analysis</i> (PCoA) berdasarkan <i>unweighted UNIFRAC</i> komunitas mikrobiota usus tikus jantan SD                                                                                           | 57 |

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 26 | Kluster komunitas bakteri dalam sekum tikus yang diberi perlakuan PRO (1 mL <i>Pichia kudriavzevii</i> 2P10 $10^8$ CFU/mL), MOS (5% Mannan-oligosakarida), PMOS (kombinasi PRO dan MOS), dan ST (infeksi <i>Salmonella</i> Typhimurium $1 \times 10^8$ CFU/mL) | 58 |
| 27 | Profil komunitas bakteri usus pada tingkat Filum pada berbagai perlakuan                                                                                                                                                                                       | 59 |
| 28 | Kelimpahan relatif tingkat genus komunitas mikrobiota sekum tikus pada semua perlakuan                                                                                                                                                                         | 61 |
| 29 | Kerapatan villi per 1000 $\mu$ m ileum dan sekum tikus SD yang diberi perlakuan probiotik dan prebiotik yang berbeda                                                                                                                                           | 62 |
| 30 | Histologi ileum tikus dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)                                                                                                                                                                                                  | 64 |
| 31 | Fotomikrograf histologi sekum tikus pada perlakuan probiotik dan prebiotik dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)                                                                                                                                             | 65 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|   |                                                                                                                                                                    |     |
|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1 | Media MRS dan prebiotik                                                                                                                                            | 102 |
| 2 | Komposisi medi Luria Bertani (LB) dan LB Prebiotik                                                                                                                 | 103 |
| 3 | Surat persetujuan komisi etik                                                                                                                                      | 103 |
| 4 | Komposisi pakan tikus                                                                                                                                              | 104 |
| 5 | Kenampakan MOS dan pakan tikus yang digunakan                                                                                                                      | 104 |
| 6 | Hasil TPC <i>Salmonella</i> pada media SSA, <i>Pichia kudriavzevii</i> pada media YPD, dan bakteri asam laktat pada media MRS pada TPC isi sekum, ileum, dan feses | 105 |