

MORFOLOGI USUS AYAM BROILER YANG DISUPLEMENTASI DENGAN PROBIOTIK STRAIN TUNGGAL DAN CAMPURAN

Morphology of Small Intestinal Broiler Chickens Supplemented with Single and Mixed Probiotic Strains

Sri Harimurti¹, Endang Sutriswati Rahayu²

¹Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Jalan Fauna, Bulaksumur, Yogyakarta 55281.

²Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta 55281.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui morfologi usus ayam broiler yang disuplementasi probiotik strain tunggal dan probiotik campuran. Ransum ayam berbasis jagung, bungkil kedelai yang bebas antibiotika disusun sesuai dengan standar kebutuhan ayam broiler; digunakan sebagai pakan dasar pada perlakuan kontrol (Po). Untuk keempat kelompok perlakuan lainnya juga digunakan pakan dasar tersebut dengan suplementasi 3 strain probiotik berturut-turut *Lactobacillus murinus*, Ar3 (P1), *Streptococcus thermophilus*, Kp2 (P2), *Pediococcus acidilactici*, Kd6 (P3), dan probiotik campuran dari ketiga strain tersebut (P4) masing-masing dengan konsentrasi 10^8 sel bakteri/ml. Suplementasi probiotik tersebut melalui tetes mulut 1 ml/ekor/hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi probiotik dengan strain tunggal maupun campuran meningkatkan tinggi vili pada duodenum, jejunum, dan ileum. Lebar vili pada duodenum, jejunum, dan ileum memiliki pola yang sama, dipengaruhi oleh suplementasi probiotik strain tunggal dan campuran. Tetapi kedalaman crypta jejunum secara statistik tidak berbeda nyata meskipun pada duodenum dan ileum berbeda secara signifikan ($P < 0,05$).

Kata kunci: *Morfologi usus, ayam broiler, probiotik*

ABSTRACT

The aim of the study was to investigate the effect of single and mixed probiotic strains on the morphology of the small intestine of broiler chickens. Antibiotic free corn-soybean ration was formulated to meet the nutrient requirement for broiler chicken as basal diet for the control treatment (Po). The other four treatment groups used the same basal diet supplemented with three probiotic strains, namely *Lactobacillus murinus*, Ar3 (P1), *Streptococcus thermophilus*, Kp2 (P2), *Pediococcus acidilactici*, Kd6 (P3) and the fourth group supplemented with the mixture of all the strains (P4), with the concentration of 10^8 cells/ml. The supplementation of the probiotics administered orally once a day, 1ml/bird. The results of the study have shown that supplementation of all of the single and mixed probiotic strains significantly ($P < 0,05$) increased duodenum, jejunum, and ileum villus height than that of the control treatment. The villus width of the duodenum, jejunum and ileum had the same pattern, affected by either single strains or mixed cultures. However, the crypt depth of jejunum was not affected by the treatments whereas the crypt depth of duodenum and ileum were significantly affected ($P < 0.05$) by the treatments.

Keywords: *Morphology of small intestinal, broiler chicken, probiotic.*

PENDAHULUAN

Tingkat biosekuriti yang diterapkan pada industri penetasan (*breeding farm*) adalah standar higienis yang benar-benar memenuhi syarat, kemudian dilanjutkan dengan sistem pemeliharaan anak ayam dalam indukan tanpa bersentuhan dengan induknya, berakibat pada perkembangan mikroflora usus ayam yang seimbang akan memakan waktu lebih lama. Sebenarnya anak ayam dapat lebih dini memiliki ketahanan terhadap infeksi bakteri patogen bilamana segera memperoleh kesempatan mengais pakan, kotoran induk dan material yang ditemui seperti pada lingkungan pemeliharaan konvensional (Fuller, 1992). Suplementasi probiotik pada periode starter yang berarti mengkonsumsi mikrobia hidup secara langsung, membantu anak ayam lebih cepat membentuk keseimbangan mikroflora usus lebih awal (Carvalho dan Hansen, 2005). Terbentuknya mikroflora yang seimbang dan mantap di saluran digesti ayam, berpengaruh positif dan sangat bermanfaat terhadap inang serta menjamin tercapainya kesehatan ayam yang prima (Huang dkk., 2004). Dilaporkan bahwa mikroflora yang seimbang di jalur digesti sama artinya dengan membangun pertahanan mikrobia yang merupakan proteksi mukosa dalam menghambat perbanyakan bakteri patogen usus (Holl, 2008; Castillo, 2008).

Jangka pemeliharaan ayam broiler yang semakin singkat (dalam waktu 33-35 hari, bobot hidup ayam mencapai sekitar 2000 g), sifatnya yang mudah terkena cekaman maupun mudahnya terinfeksi bakteri patogen dalam saluran digesti menyebabkan banyak dipilih jalan pintas dengan pemberian antibiotik dosis subterapi sebagai langkah proteksi. Bahkan secara luas pemberian antibiotik juga diarahkan untuk memacu laju pertumbuhan ayam (Carvalho dan Hansen, 2005). Jin dkk. (1997) dan Smirnov dkk. (2005) menyebutkan bahwa penggunaan antibiotik yang terus menerus memicu terbentuknya bakteri yang resisten terhadap obat (*drug resistant bacteria*) di samping munculnya residu antibiotik dalam daging dan telur. Oleh karenanya mulai awal 2006, di Uni Eropa telah dilarang penggunaan antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan baik melalui ransum ataupun diberikan via air minum ternak (Sun dkk., 2005). Pada akhirnya alternatif yang dipilih adalah suplementasi probiotik. Lebih lanjut juga dijelaskan secara menci bahwa efek probiotik adalah spesifik untuk suatu strain. Bahkan strain-strain yang masih berasal dari sesama species bakteri memiliki efek fisiologis yang berbeda (Holl, 2008). Dilaporkan sejumlah probiotik memiliki pengaruh dalam mengatur karakter fisiologis jalur digesti antara lain permeabilitas usus dan sistem imun pada mukosa usus. Selanjutnya dinyatakan bahwa didalam usus, Bifidobacteria dan Lactobacilli memproduksi asam lemak rantai pendek (SCFA), asam laktat dan senyawa antimikrobia (Awad dkk., 2008). Asam lemak rantai pendek yang

diproduksi oleh proses fermentasi bakteri dilaporkan berperan dalam menstimulasi perbanyakan sel epitel usus (Gunal dkk., 2006). Selanjutnya disebutkan pula bahwa suplementasi *Lactobacillus casei* mampu meningkatkan produksi sel crypta pada ileum tikus sampai sebanyak 40%.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek suplementasi probiotik strain tunggal *Lactobacillus murinus* (Ar3), *Streptococcus thermophilus* (Kp2), dan *Pediococcus acidilactici* (Kd6) serta campuran ketiga strain tersebut terhadap morfologi usus ayam broiler yang meliputi tinggi vili, lebar vili dan kedalaman crypta pada usus halus pada segmen duodenum, jejunum dan ileum.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Sembilan puluh ekor ayam broiler strain Lohmann berumur tiga hari, sudah divaksin ND. Kandang besi berbentuk panggung dengan alas tipe slat, sehingga kotoran ayam jatuh ke bawah kandang tidak mencemari ayam. Ransum basal berbasis jagung, bungkil kedelai disusun sesuai standar kebutuhan nutrisi untuk broiler fase starter yang direkomendasikan NRC (1994). Komposisi ransum basal yang formulanya bebas dari antibiotik tersebut mengandung protein kasar 22,81%, metabolis energi (ME) 3053,45 kkal/kg, Ca 0,26%, P 0,21%, lisin 1,23%, metionin 0,52%, dan triptofan 0,24%. Probiotik dalam penelitian ini adalah kultur murni *Lactobacillus murinus* (Ar3), *Streptococcus thermophilus* (Kp2), dan *Pediococcus acidilactici* (Kd6) yang diisolasi dari cecum ayam kampung asli Indonesia (Sri Harimurti, dkk., 2006).

Tahap Penelitian

Penyiapan hewan coba. Sembilan puluh ekor ayam broiler ditimbang satu per satu dan dipasang nomer pada sayap (*wing web*), secara acak dialokasikan kedalam lima kelompok perlakuan. Lima kelompok perlakuan tersebut adalah sebagai berikut, kelompok ayam yang diberi ransum basal tanpa suplementasi probiotik, yaitu sebagai kontrol (P0). Empat kelompok perlakuan lainnya juga diberikan ransum basal yang berturut-turut disuplementasi dengan strain probiotik tunggal *Lactobacillus murinus*, Ar3 (P1), *Streptococcus thermophilus*, Kp2 (P2), dan *Pediococcus acidilactici*, Kd6 (P3). Untuk kelompok perlakuan terakhir disuplementasi dengan probiotik campuran ketiga strain tersebut di atas (P4). Setiap kelompok perlakuan diulang tiga kali (6 ekor ayam/kandang). Ransum dan air minum diberikan secara *ad libitum*, sampai dengan ayam tersebut berumur 35 hari. Konsentrasi probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10^8 sel bakteri setiap mililiter, demikian juga untuk strain campuran. Suplementasi probiotik diteteskan lewat

mulut per ml per ekor ayam setiap hari. Pada akhir penelitian yaitu ketika ayam berumur 35 hari, ayam dari setiap perlakuan, dipuasakan semalam sebelum dibunuh untuk studi histologi yaitu mengamati morfologi usus halus meliputi tinggi villi, lebar villi dan kedalaman crypta pada duodenum, jejunum, dan ileum.

Penyiapan sampel usus ayam. Segmen usus halus yang disiapkan untuk studi histologi adalah duodenum yang rentangannya melipat membentuk putaran sejajar. Jejunum didefinisikan segmen usus halus bagian tengah antara bagian akhir duodenum dan Meckel's diverticulum. Ileum didefinisikan segmen usus halus yang rentangannya adalah dari Meckel's diverticulum sampai dengan awal percabangan cecum. Adapun untuk sampel ileum, potongan sepanjang 2 cm diambil dari daerah Meckel's diverticulum 4 cm kearah distal.

Preparasi sampel histologi. Sampel usus segar yang sudah diperoleh dibuat potongan sepanjang 2 cm untuk masing-masing segmen usus halus yakni duodenum, jejunum, ileum kemudian difiksasi dalam 10 % buferformalin, dibiarkan terendam 24 – 48 jam, dan untuk selanjutnya dibuat preparat histologi.

Cara penyiapan preparat haematoxylin – eosin, setiap potongan sampel jaringan dihidrasi melalui satu seri alkohol yang konsentrasinya bertingkat semakin meninggi. Sampel ditransfer satu demi satu kedalam setiap konsentrasi alkohol dan dibiarkan untuk terendam dalam setiap konsentrasi alkohol tersebut kira-kira 10 detik. Untuk selanjutnya sampel tersebut dimasukkan dalam xytol dan akhirnya dicelupkan dalam parafin. Menggunakan microtome, sampel disayat tipis untuk seterusnya dilakukan pengecatan haematoxylin – eosin. Preparat histologi yang sudah siap dalam objek glas diamati dan diukur menggunakan mikroskop dengan bantuan komputer. Langkah untuk pengukuran tinggi villi, lebar villi dan kedalaman crypta Lieberkuhn, terlebih dahulu obyek ditentukan menggunakan mikroskop Olympus BX 51 yang dilengkapi proyektor Olympus DP 12 diatur dengan perbesaran 4 kali. Gambaran histologi muncul pada layar monitor JVC TMH 1750 C. Setelah ditemukan morfologi usus sesuai dengan yang diharapkan, dilakukan pemotretan seluruh preparat yang akan diukur. Pengukuran minimum tiga kali per slide yang dibuat untuk setiap parameter. Selanjutnya cara pengukuran tinggi villi, lebar villi dan kedalaman crypta Lieberkuhn dilakukan menggunakan komputer layar datar dengan program Microsoft Office Picture Manager pada perbesaran 40%. Mula-mula standar ukuran μm ditentukan lebih dahulu dengan bantuan komputer yaitu berapa nilai perbesaran yang dipakai atau diinginkan dikonversikan kedalam satuan panjang (μm). Angka satuan μm yang diperoleh selanjutnya digunakan sebagai standar dalam mengukur panjang atau lebar villi yang terpampang pada layar monitor.

Analisis Hasil

Data hasil penelitian dievaluasi menggunakan program *Statistical Package for Social Science* 12,0 (2003). Hasil perbedaan antar perlakuan diuji lanjut menggunakan uji Duncan's Multiple Range Test pada tingkat $P < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi usus pada duodenum, jejunum dan ileum meliputi hasil pengukuran tinggi vili, lebar vili, dan kedalaman crypta pada ayam broiler yang disuplementasi probiotik strain tunggal maupun probiotik campuran dari ketiga strain tersebut disajikan pada Tabel 1. Tinggi vili dan lebar vili pada duodenum, jejunum dan ileum untuk keempat kelompok perlakuan berbeda secara signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol (Gambar 1). Suplementasi probiotik pada ayam broiler dengan strain tunggal memperlihatkan hasil yang sama dengan pemberian dengan probiotik strain campuran. Hasil ini didukung oleh Samanya dan Yamauchi (2002) dan Ichikawa dkk. (1999) dalam Gunal dkk. (2006) dan Ahmad (2006) yang melaporkan bahwa peningkatan tinggi vili dan lebar vili dipastikan akibat meningginya asam lemak rantai pendek yang diinduksi oleh probiotik. Selanjutnya dijelaskan bahwa asam lemak rantai pendek yang diproduksi oleh proses fermentasi strain bakteri probiotik berperan dalam stimulasi perbanyakan sel epitel usus. Hal tersebut dapat dipahami karena asam lemak rantai pendek adalah merupakan komponen fosfolipid membran epitel. Piruvat dalam fermentasi bakteri asam laktat homofermentatif tidak keseluruhannya diubah menjadi asam laktat. Sebagian piruvat mengalami dehidrogenasi menghasilkan asetil-CoA yang selanjutnya mengalami serangkaian reaksi biokimiawi menjadi asam lemak rantai pendek (Greulach, 1976; Atlas, 1996).

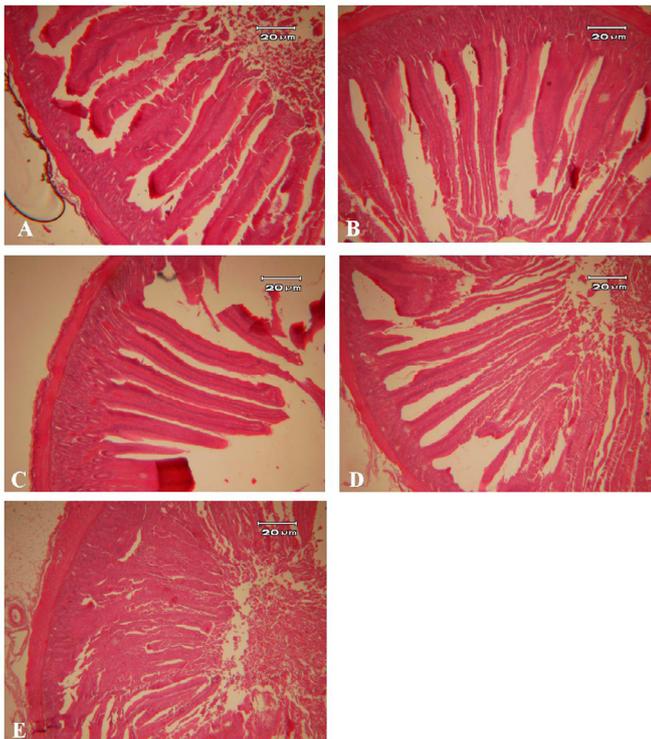
Tabel 1. Pengaruh suplementasi probiotik terhadap morfologi usus ayam broiler

Segmen Usus	Kontrol (P0)	Suplementasi Probiotik			
		P1	P2	P3	P4
Duodenum					
Tinggi vili, μm	497,23 ^a	627,77 ^b	697,20 ^c	708,33 ^c	713,87 ^c
Lebar vili, μm	73,33 ^a	105,57 ^b	115,57 ^b	111,10 ^b	122,57 ^b
Kedalaman crypta, μm	90,53 ^a	95,57 ^a	144,47 ^b	133,37 ^b	125,03 ^b
Tinggi vili/ kedalaman crypta	5,49	6,56	4,82	5,31	5,70
Jejunum					
Tinggi vili, μm	558,33 ^a	786,10 ^b	766,66 ^b	788,57 ^b	791,67 ^b
Lebar vili, μm	75,53 ^a	103,36 ^b	141,70 ^c	119,46 ^{bc}	1119,43 ^{bc}
Kedalaman crypta, μm	92,80 ^{ns}	130,57 ^{ns}	119,46 ^{ns}	119,43 ^{ns}	120,56 ^{ns}
Tinggivili/ kedalaman crypta	6,01	6,0	6,42	6,60	6,57

Ileum					
Tinggi vili, µm	516,66 ^a	694,47 ^b	750,00 ^b	730,57 ^b	747,23 ^b
Lebar vili, µm	69,97 ^a	142,76 ^c	124,43 ^{bc}	126,66 ^{bc}	1113,90 ^b
Kedalaman crypta, µm	76,10 ^a	107,23 ^{bc}	135,03 ^c	110,00 ^{bc}	114,43 ^c
Tinggi vili/ kedalaman crypta	6,78	6,48	5,55	6,64	6,53

Keterangan : a, b, c suprescript signifikan (P<0,05) pada baris yang sama; ns nonsignifikan
 P0 kontrol tanpa probiotik; P1 probiotik strain tunggal *Lactobacillus murinus*, Ar3; P2 *Streptococcus thermophilus*, Kp2 dan P3 *Pediococcus acidilactici*, kd6; P4 probiotik campuran

Peningkatan tinggi vili dan lebar vili diasosiasikan dengan lebih luasnya permukaan vili untuk absorpsi nutrisi masuk ke dalam aliran darah (Mile dkk., 2006). Di lain pihak juga menyebutkan bahwa rasio tinggi vili dan kedalaman crypta adalah indikasi semakin luasnya area untuk absorpsi nutrisi (Sio dkk., 2005). Demikian juga Awad dkk. (2008) lebih rinci menyatakan bahwa peningkatan tinggi vili pada jejunum broiler adalah paralel dengan peningkatan fungsi pencernaan dan fungsi absorpsi karena meluasnya area absorpsi serta merupakan suatu ekspresi lancarnya sistem transportasi nutrisi ke seluruh tubuh, yang menguntungkan inang.



Gambar 1. Gambaran histologi vili usus pada ayam broiler setelah pemberian probiotik BAL.
 (A) Vili usus pada pemberian *L. murinus* AR3; (B) Vili usus pada pemberian *S. thermophilus* KP2; (C) Vili usus pada pemberian *P. acidilactici* KD6; (D) Vili usus pada pemberian BAL campuran; (E) Vili usus pada tanpa pemberian BAL (sebagai kontrol).

Adapun untuk kedalaman crypta, efek yang nyata dari seluruh kelompok perlakuan hanya nampak pada ileum, sedangkan pada jejunum tidak berbeda nyata. Hal serupa terjadi pada hasil yang dicapai Sun dkk. (2005) dan Smirnov dkk. (2005) yang memperlihatkan bahwa ternyata tinggi vili dan kedalaman crypta tidak memberikan efek setelah ayam berumur lebih dari 28 hari. Lebih lanjut diduga bahwa perkembangan morfologi usus (Gambar 1) erat hubungannya dengan peranan mikronutrien sejalan dengan meningkatnya umur ayam.

KESIMPULAN DAN SARAN

Suplementasi probiotik 10⁸ sel bakteri per ml setiap ekor ayam broiler setiap hari sejak dini, dengan strain tunggal *Lactobacillus murinus* (Ar3), *Streptococcus thermophilus* (Kp2), maupun *Pediococcus acidilactici* (Kd6) masing-masing memperlihatkan tampilan morfologi usus yang sama baiknya pada inang umur 35 hari. Hasil tersebut lebih baik daripada kontrol, demikian juga hasil pemberian probiotik campuran ketiga strain tersebut diatas pada dosis yang sama. Disarankan penggunaan probiotik tersebut diatas untuk memperbaiki morfologi usus ayam broiler.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, I. (2006). Effect of probiotics on broiler performance. *International Journal of Poultry Science* 5: 593-597.

Atlas, R.M. (1996). *Principles of Microbiology*. Wm. C. Brown Publishers. London. Second Edition.

Awad, W.A., Ghareeb, K., Nitch, S., Pasteiner, S., Raheem, S.A. dan Bohm, J. (2008). Effect of dietary inclusion of probiotic, prebiotic and symbiotic on intestinal glucose absorption of broiler chickens. *International Journal of Poultry Science* 7: 688-691.

Carvalho, N. dan Hansen, S. (2005). Prospects for probiotics in broilers. *Feed International*. December. Page 9-11.

Castillo, M. (2008). Do probiotics work in turkeys? *Poultry International*. November. Page 26-27.

Fuller, R. (1992). *Probiotic: The Scientific Basis*. Chapman and Hall. London

Greulach, V.A. (1976). *Plant Function and Structure*. Collier Macmillan Publishers. London.

Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Karahan, N. dan Sulak, O. (2006). The effect of antibiotics growth promotor, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of Broilers. *International Journal of Poultry Science* 5: 149-155.

- Harimurti, S., Rahayu, E.S., Nasroedin. dan Kurniasih (2007). Bakteri asam laktat dari intestine ayam sebagai agensia probiotik. *Jurnal Produksi Ternak* **9**: 82-91.
- Holl, E. (2008). Probiotic target poultry performance. *Feed International*. December. Page 24-27.
- Huang, M.K., Chory, Y.J., Honde, R., Lee, J.W., Lee, B. dan Xhao, X. (2004). Effect of Lactobacilli and an Acidophilic Fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. *Journal of Poultry Science* **83**: 788-795.
- Jin, L. Z., Ho, Y.W., Abdullah, N. dan Jalaludin, S. (1997). Probiotics in poultry: modes of action. *Journal of World's Poultry Science* **53**: 351-368.
- Mile, R.D., Butcher, G.D., Henry, P.R. dan Littell, R.C. (2006). Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Journal of Poultry Science* **85**: 476-485.
- NRC. (1994). *Nutrient Requirements of Poultry*. National Academy Press. Washington, D. C., USA.
- Sieo, C.C., Abdullah, N., Tan, W.S. dan Hot, Y.W. (2005). Influence of glucanase- producing lactobacilli strains on intestinal characteristics and feed passage rate of broiler chickens. *Journal of Poultry Science* **84**: 734-741.
- Smirnov, A., Perez, R., Amit-Romach, E., Sklan, D. dan Uni, Z. (2005). Mucin dynamics and microbial populations in chicken small intestine changed by dietary probiotic and antibiotic growth promotor supplementation. *Journal of Nutrition* **135**: 187-192.
- Sun, X., McElroy, A., Webb, Jr., Sefton, A.E.K.E. dan Novak, C. (2005). Broiler performance and intestinal alterations when fed drug-free diets. *Journal of Poultry Science* **84**: 1294-1302.