

Performa dan Histopatologi Ayam Broiler yang Diinfeksi dengan *Salmonella pullorum* Setelah Pemberian Imbuan Pakan Mengandung Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*)

Performance and Histopathology of Broiler Chicken Infected by *Salmonella pullorum* and Fed Feed Additive Containing Earth Worm Meal (*Lumbricus rubellus*)

A. Sofyan^{a*}, H. Julendra^a, E. Damayanti^a, B. Sutrisno^b, & M. H. Wibowo^c

^aBagian Pakan dan Nutrisi Ternak, UPT. BPPTK – LIPI

Jln. Yogya-Wonosari Km. 31, Gading, Playen, Gunungkidul, Yogyakarta 55861

^bLaboratorium Patologi, ^c Laboratorium Mikrobiologi,

Fakultas Kedokteran Hewan-Universitas Gajah Mada

Jln. Fauna No.3, Karangmalang Kampus UGM Bulaksumur, Yogyakarta 55281

(Diterima 12-10-2009; disetujui 22-01-2010)

ABSTRACT

A study was carried out to evaluate the effect of earth worm meal (*Lumbricus rubellus*) added into feed additive (FA) on performance and histopathology of broilers which were infected with 1 ml/bird containing 3×10^8 pure culture of *Salmonella pullorum* orally. Broilers were tested their antibody to *S. pullorum* by agglutination test before the chickens were infected at 22 days of age. Treatment consisted of control without FA (R0), control with antibiotic (R1), FA contain 25% earth worm meal/EWM (R2), FA contain 50% EWM (R3), FA contain 75% EWM (R4), and FA contain 100% EWM (R5) which were periodically fed to broilers every three days at seventh days before and 10 days after infection. Treatments were arranged on completely randomized design with five treatments and four replications of four broilers each. Broilers given FA had significantly ($P < 0.05$) increased body weight gain and improved feed conversion ratio. Broiler treated with FA containing 25% EWM (R2) improved feed utilization compared to R1, R3, and control. Histopathology analysis showed that broilers treated with FA could reduce viscera's necrosis, especially in the liver and intestine. Lesions found in broilers which were infected *S. pullorum*, could be reduced by FA treatment. It is concluded that EWM can be used as feed additive to improve broilers performance.

Key words: feed additive, *Lumbricus rubellus*, *Salmonella pullorum*, broilers, histopathology

PENDAHULUAN

Pemberian imbuan pakan (feed additive) sangat penting untuk meningkatkan kesehatan dan produktivitas ternak unggas. Imbuan pakan yang umum digunakan sebagai pemacu pertumbuhan (growth promoter) selama ini adalah antibiotik. Namun demikian, penggunaan antibiotik untuk pemacu pertumbuhan ternak unggas semakin ditinggalkan sejak dikeluarkannya larangan penggunaan antibiotik pada ternak oleh Uni Eropa (EEC, 1998). Hal ini karena berdasarkan beberapa hasil penelitian yang menyebutkan bahwa penggunaan antibiotik dapat menyebabkan resistensi bakteri patogen yang dapat berpengaruh negatif terhadap kesehatan manusia (Dibner & Richards, 2005). Residu antibiotik dalam

daging atau telur unggas juga dapat menyebabkan resiko penyakit degeneratif (Donoghue, 2003). Berbagai upaya telah dilakukan untuk mencari bahan alternatif pengganti antibiotik seperti probiotik dari bakteri asam laktat, prebiotik dari manan oligosakarida, maupun kombinasi keduanya dalam bentuk simbiotik sebagai pemacu kesehatan dan produktivitas unggas (Yang *et al.*, 2009). Penggunaan bahan alami yang memiliki daya antimikroba juga berpotensi sebagai imbuan pakan alternatif.

Cacing tanah merupakan salah satu bahan alami yang berpotensi sebagai pengganti antibiotik. Selain memiliki kadar protein tinggi (50%-60%), tepung cacing tanah (TCT) juga memiliki aktivitas antimikroba terhadap *E. coli* (Julendra & Sofyan, 2007). Penggunaan cacing tanah dapat menekan pertumbuhan *S. pullorum* secara *in vitro* (Damayanti *et al.*, 2009). Wang *et al.* (2007) menyebutkan bahwa golongan cacing tanah seperti *Eisenia foetida* memiliki kandungan 'vermipeptida' yang merupakan senyawa antibakteri terhadap bakteri Gram positif maupun negatif (broad spectrum). Hasil peneli-

* Korespondensi:

Bagian Pakan dan Nutrisi Ternak, UPT. BPPTK – LIPI
Jln. Yogya-Wonosari Km. 31, Gading, Playen, Gunungkidul,
Yogyakarta 55861; e-mail: ahmad.sofyan@lipi.go.id

tian Popović *et al.* (2005) menunjukkan bahwa kelompok cacing tanah (annelida) memiliki peptida kompleks dalam bentuk glikoprotein (G-90) yang mampu menghambat bakteri patogen, seperti *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus pyogenes*.

Bakteri *S. pullorum* merupakan bakteri patogen golongan Gram negatif yang dapat menyebabkan kematian ayam pedaging 80%-100% (Shivaprasad, 2000). Infeksi *S. pullorum* dalam saluran pencernaan unggas menyebabkan penyakit *bachillary white diarrhoea* atau yang dikenal sebagai penyakit berak kapur. Penyakit pullorum dapat ditularkan secara horizontal, baik melalui kontak langsung atau tidak langsung (misalnya melalui air minum) dan vertikal melalui telur dari induk ayam kepada anaknya (Poernomo, 2004). Bakteri *Salmonella* dalam saluran pencernaan juga menyebabkan pertumbuhan ayam terganggu dan angka mortalitas yang tinggi sehingga berakibat pada biaya produksi yang tidak optimal (Oliveira *et al.*, 2000).

Berdasarkan permasalahan di atas, penelitian tentang pengaruh pemberian imbuhan pakan (IP) yang mengandung TCT untuk mencegah penyakit pullorum perlu dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian imbuhan pakan yang mengandung tepung cacing tanah terhadap performa dan gambaran histopatologi organ dalam ayam broiler yang diinfeksi dengan *S. pullorum*.

MATERI DAN METODE

Ternak dan Perlakuan Pakan

Penelitian menggunakan 80 ekor ayam broiler strain *Cobb* umur 14 hari, dibagi dalam 5 kelompok perlakuan yaitu R0 (kontrol/tanpa pemberian IP), R1 (kontrol dengan pemberian antibiotik Tetracolor), R2 (IP mengandung 25%TCT), R3 (IP mengandung 50% TCT), R4 (IP mengandung 75% TCT) dan R5 (IP mengandung 100% TCT). Masing-masing kelompok perlakuan dibagi menjadi 4 ulangan dan setiap ulangan berisi 4 ekor ayam. Ayam dipelihara dari umur 1 hari (DOC) sampai umur 35 hari dan diberi perlakuan mulai umur 14 hari.

Pakan ayam broiler *starter* (BR1) yang digunakan dibeli dari *poultry shop*, sedangkan imbuhan pakan dibuat dengan formula yang tersusun dari TCT dan bahan pengisi (*filler*). Formula imbuhan pakan dibuat dengan kandungan TCT yang berbeda, yaitu 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100% (b/b). Komposisi nutrisi imbuhan pakan pada berbagai formula ditampilkan pada Tabel 1.

Pakan dan air minum diberikan *ad libitum*, sedangkan pemberian imbuhan pakan dilakukan sebelum dan sesudah infeksi *S. pullorum* sebanyak 2,5-5 g per ekor yang disesuaikan dengan bobot hidup ayam. Pemberian imbuhan pakan dilakukan secara periodik pada 7 hari sebelum infeksi sampai 10 hari setelah infeksi dengan interval waktu pemberian 3 hari.

Infeksi *Salmonella pullorum*

Ayam broiler dipelihara menurut standar pemeliharaan ayam secara umum. Sebelum diinfeksi ayam

Tabel 1. Komposisi nutrisi imbuhan pakan (% BK)

Parameter	R1	R2	R3	R4
Bahan kering	89,61	89,94	88,54	88,57
Protein	26,05	38,39	48,39	63,06
Lemak	11,15	11,38	15,01	18,49
BETN	46,08	34,75	26,62	12,45
Serat kasar	3,28	7,09	3,52	0,19
Abu	13,44	8,39	6,46	5,81

Keterangan: R1=imbuhan pakan mengandung 25% tepung cacing tanah (TCT), R2=imbuhan pakan mengandung 50% TCT, R3=imbuhan pakan mengandung 75% TCT, R4=imbuhan pakan mengandung 100% TCT.

tersebut diuji antibodinya terhadap *S. pullorum* dengan uji aglutinasi, menggunakan antigen yang diproduksi oleh Balai Penelitian Veteriner (Balitvet), Bogor. Ayam-ayam yang menunjukkan hasil negatif selanjutnya diinfeksi *S. pullorum* secara peroral dengan dosis infeksi 1 ml (standard *Mac Farland I*) atau setara 3×10^8 bakteri. Dosis tersebut ditentukan pada penelitian pendahuluan. Ayam yang mempunyai antibodi positif *S. pullorum* dikeluarkan dari kelompok tersebut dan digantikan dengan ayam yang tidak membawa antibodi terhadap bakteri tersebut.

Isolat *S. pullorum*, sebelum digunakan dipasasekan (dilintaskan) terlebih dulu pada ayam broiler untuk membangkitkan patogenitasnya. Pasase dilakukan dengan menginfeksi isolat *S. pullorum* pada ayam broiler dengan tujuan meningkatkan patogenitas isolat bakteri yang diteliti. Isolasi *S. pullorum* dilakukan dari sampel *swab* kloaka ayam sakit akibat infeksi buatan tersebut. Isolasi dan identifikasi mengacu pada metode Seeley *et al.* (2001) dan OIE (2008).

Analisis Histopatologi

Pemeriksaan sampel histopatologi pada organ saluran pencernaan, hati, ginjal dan paru diperoleh dari ayam yang diberi perlakuan kontrol tanpa dan dengan infeksi *S. pullorum* yang diberi IP mengandung TCT terendah (25% TCT) dan TCT tertinggi (100% TCT). Organ-organ terpilih tersebut dipreparasi dan diwarnai dengan hematoksilin-eosin. Gambaran histopatologi dievaluasi dengan melihat tingkat kerusakan jaringan yang diindikasikan dari lesi pada organ ayam broiler tersebut.

Analisis Data

Data performa ayam broiler dari perlakuan kontrol antibiotik dan pemberian IP diuji secara statistik dengan sidik ragam (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji ortogonal kontras (Steel & Torrie, 1986), sedangkan data gambaran histopatologi ayam broiler yang diberi perlakuan kontrol tanpa antibiotik (infeksi dan tanpa infeksi) diuji secara deskriptif.

Tabel 2. Performa ayam broiler yang diberi imbuhan pakan (IP) mengandung tepung cacing tanah (TCT)

Peubah	Kontrol antibiotik (R1)	Infeksi + imbuhan pakan + % TCT			
		25% (R2)	50% (R3)	75% (R4)	100% (R5)
Bobot hidup akhir (g/ekor)	1454,2± 41,2 ^a	1635,4± 90,4 ^b	1492,7± 58,4 ^a	1440,6±100,7 ^a	1546,9±121,8 ^b
Pertambahan bobot hidup (g/ekor)	1172,9± 44,9 ^a	1393,5± 91,7 ^b	1227,7± 43,1 ^a	1174,4± 75,8 ^a	1280,6±127,5 ^b
Konsumsi pakan (g/ekor)	2188,5±271,1 ^b	1886,5±147,8 ^a	2153,1±234,2 ^b	2059,4± 37,3 ^a	2025,2± 81,4 ^a
Konversi pakan	1,87± 0,28 ^b	1,36± 0,18 ^a	1,76± 0,20 ^b	1,76± 0,11 ^b	1,59± 0,12 ^a
Efisiensi ransum (%)	54,26± 7,45 ^a	74,40± 9,69 ^c	57,50± 6,28 ^a	57,01± 3,33 ^a	63,15± 4,50 ^b

Keterangan: R1=kontrol dengan pemberian antibiotik Tetracolor; R2=IP mengandung 25% TCT; R3=IP mengandung 50% TCT; R4=IP mengandung 75% TCT; R5=IP mengandung 100% TCT. Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Performa Ayam Broiler

Pengaruh pemberian imbuhan pakan mengandung TCT (IP) terhadap performa ayam broiler dievaluasi dari pertambahan bobot hidup (PBH), konsumsi pakan dan nilai konversi pakan (Tabel 2). Penambahan IP pada pakan nyata (P<0,05) meningkatkan performa ayam broiler. Bobot hidup akhir dan nilai PBH ayam broiler yang diberikan IP 25% (R2) menunjukkan nilai yang lebih tinggi dengan tingkat konsumsi pakan dan nilai konversi pakan (FCR) yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Peningkatan pertambahan bobot hidup pada ayam yang diberi IP disebabkan keberadaan TCT meningkatkan utilisasi zat makanan dalam saluran pencernaan. Kadar protein kasar dalam IP yang tinggi (26%-63%) berperan dalam meningkatkan asupan zat makanan. Selain itu, komposisi IP yang terdiri atas tepung cacing tanah (25%-100%) yang mengandung senyawa aktif 'lumbricin' berdampak positif dalam proses metabolisme zat makanan dalam saluran pencernaan unggas.

Keberadaan senyawa aktif 'Lumbricin I' dalam tepung cacing tanah (TCT) berperan dalam menghambat

bakteri patogen (Cho *et al.*, 1998). Hasil uji *in vitro* daya hambat TCT terhadap bakteri patogen menunjukkan bahwa TCT memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *E. coli* (Julendra & Sofyan, 2007; Sofyan *et al.*, 2008) dan *S. pullorum* (Damayanti *et al.*, 2009). Salzet *et al.* (2006) melaporkan bahwa cacing tanah *L. rubellus* merupakan golongan *Annelida* yang mempunyai senyawa peptida bersifat antimikroba sebagai pertahanan pertama terhadap mikroba. Keberadaan senyawa ini menyebabkan infeksi bakteri patogen dapat diminimalkan sehingga proses pencernaan zat makanan lebih optimal.

Peranan senyawa aktif ini diindikasikan dari nilai efisiensi pakan lebih tinggi pada perlakuan R2 dan R4 dibandingkan dengan kontrol antibiotik. Data tersebut menunjukkan bahwa keberadaan TCT dalam imbuhan pakan dapat menggantikan peranan antibiotik dalam memacu performa unggas.

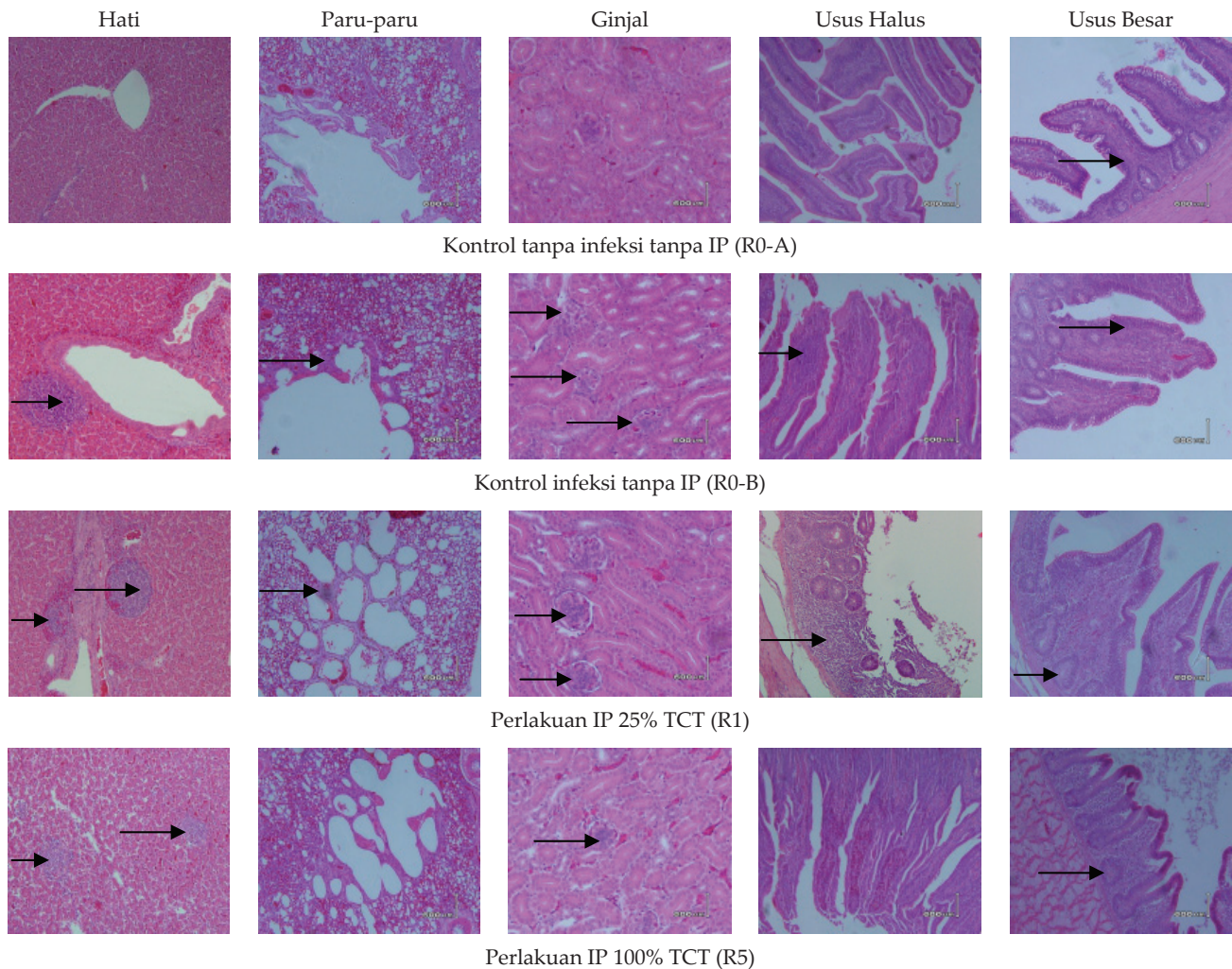
Histopatologi Organ Dalam Ayam Broiler

Pemberian tepung cacing tanah dalam imbuhan pakan mengurangi tingkat kerusakan (nekrosis) pada jaringan hati, usus halus dan organ pencernaan lainnya. Penurunan kerusakan jaringan tersebut dapat dilihat dari menurunnya lesi dan peradangan pada organ ginjal

Tabel 3. Histopatologi organ dalam ayam broiler yang diinfeksi *Salmonella pullorum* setelah pemberian imbuhan pakan yang mengandung tepung cacing tanah

Perlakuan	Sampel	Organ pencernaan				
		Hati	Ginjal	Paru-paru	Usus halus	Usus besar
Kontrol non-infeksi	1	MFN	-	R	-	R1, EE
	2	MFN	-	O	-	EE
Kontrol infeksi	1	MFN	NI	S	-	R1
	2	MFN	NI	R	-	R1
R2 (IP 25% TCT)	1	FL, MFN	-	FL, R	FL,R1	H
	2	MFN	-	-	-	EE, R1
R5 (IP 100% TCT)	1	MFN	NI	R	-	R1
	2	MFN	-	-	-	-

Keterangan: MFN=multifokal nekrosis, FL=folikel limfoid, NI=netritis interstisial, R=infiltrasi sel-sel radang pada bronkus, O=timbunan masa homogen, R1=infiltrasi sel-sel radang neutrofil, EE=erosi epitel, H=kongesti pembuluh darah; R2=imbuhan pakan (IP) mengandung 25% tepung cacing tanah (TCT); R5=IP mengandung 100% TCT.



Gambar 1. Histopatologi pada organ hati, paru-paru, ginjal, dan usus ayam broiler yang diinfeksi *Salmonella pullorum* setelah pemberian imbuhan pakan (IP) yang mengandung tepung cacing tanah (TCT). Tanda → menunjukkan adanya kerusakan.

(Tabel 3). Hasil analisis histopatologi juga menunjukkan bahwa ditemukan lesi organ pada ayam yang diinfeksi terdapat kerusakan, antara lain pada organ hati, paru-paru, ginjal, dan usus (Gambar 1).

Penurunan lesi organ dalam pada ayam yang diinfeksi dan diberi perlakuan IP mengandung TCT diduga melalui mekanisme peningkatan kekebalan pada tubuh ayam. Hal ini didukung dari jumlah ayam yang positif terinfeksi *S. pullorum* pada ayam yang diberi IP dari penelitian yang dilakukan oleh Damayanti *et al.* (2009). Peranan TCT dalam mendukung kesehatan ayam tersebut didukung oleh Liu *et al.* (2004) yang melaporkan bahwa cacing tanah *L. rubellus* dapat menstimulasi sistem kekebalan.

Peningkatan kekebalan ini juga didukung oleh Salzet *et al.* (2006) yang melaporkan bahwa cacing *L. rubellus* memiliki senyawa peptida yang berperan dalam mendukung sistem kekebalan seluler dalam melawan patogen termasuk fagositosis, enkapsulasi dan sitotoksitas. Selain itu, *L. rubellus* juga meningkatkan sistem kekebalan humoral yang didasarkan sifat antimikroba, hemolitik, dan pembekuan dari cairan tubuhnya.

KESIMPULAN

Penggunaan tepung cacing tanah *L. rubellus* sebagai imbuhan dalam pakan dapat meningkatkan pertambahan bobot hidup dan memperbaiki nilai konversi ransum. Pemberian imbuhan pakan yang mengandung 25% TCT mampu menurunkan derajat lesi organ dalam ayam broiler akibat infeksi *S. pullorum*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada drh. Tri Untari, M.Si. (Fakultas Kedokteran Hewan, UGM) atas saran dan masukannya, serta Bapak Andi Febrisiantosa, S.Pt. (UPT. BPPTK-LIPI) yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Cho, J. H., C. B. Park, Y. G. Yoon, & S. C. Kim. 1998. Lumbricin I, a novel proline-rich antimicrobial peptide from the earthworm: purification, cDNA cloning and molecular characterization. *Biochim. Biophys. Acta.* 1408:67-76.

- Damayanti, E., A. Sofyan, H. Julendra, & T. Untari.** 2009. Pemanfaatan tepung cacing tanah *Lumbricus rubellus* sebagai agensia anti-pullorum dalam imbuhan pakan ayam broiler. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner (JITV)* 14:82-89.
- Dibner, J. J. & J. D. Richards.** 2005. Antibiotics growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poult. Sci.* 84:634-643.
- Donoghue, D. J.** 2003. Antibiotic residues in poultry tissues and eggs: human health concerns? *Poult. Sci.* 82:618-621.
- EEC [European Economic Commission].** 1998. Council Regulation (EC) No. 2821/98 of 17 December 1998 Amending, As Regards Withdrawal of The Authorization of Certain Antibiotics, Directive 70/524/EEC Concerning Additives in Feedingstuffs. <http://eur-lex.europa.eu> (24 March 2008).
- Julendra, H. & A. Sofyan.** 2007. Uji in vitro penghambatan aktivitas *Escherichia coli* dengan tepung cacing tanah (*Lumbricus rubellus*). *Med. Pet.* 30:41-47.
- Liu, Y. Q., Z. J. Sun, C. Wang, S. J. Li, & Y. Z. Liu.** 2004. Purification of novel antibacterial short peptide in earthworm. *Acta. Biochim. Biophys. Sinica.* 36:297-302.
- OIE [Office International des Epizooties].** 2008. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2008: Chapter 2.3.11 Fowl Typhoid and Pullorum Disease. http://www.oie.int/Eng/Normes/Mmanual/2008/pdf/2.03.11_Fowl_Typhoid.pdf [14 October. 08].
- Oliveira, G. H., A. B. Junior, & P. A. Barrow.** 2000. Prevention of *Salmonella* infection by contact using intestinal flora of adult birds and/or a mixture of organic acids. *Braz. J. Microbiol.* 31:116-120.
- Poernomo, J. S.** 2004. Variasi tipe antigen salmonella pullorum yang ditemukan di Indonesia dan penyebaran serotipe *Salmonella* pada ternak. *Wartazoa* 14:143-159.
- Popović, M., M. Grdiša, & T. M. Hrženjak.** 2005. Glycolipoprotein G-90 obtained from the earthworm *Eisenia foetida* exerts antibacterial activity. *Vet. Arhiv.* 75:119-128.
- Shivaprasad, H. L.** 2000. Fowl typhoid and pullorum disease. *Rev. Sci. Int. Epic.* 19:405-424.
- Salzet, M., A. Tasiemski, & E. Cooper.** 2006. Innate immunity in lophotrochozoans: the annelids. *Curr. Pharm. Des.* 12:1-8.
- Seeley, H. W., P. J. Van Demark & J. J. Lee.** 2001. *Microbes in Action: A Laboratory Manual of Microbiology.* 4th Ed. W. H. Freeman and Company, New York.
- Sofyan, A., E. Damayanti, & H. Julendra.** 2008. Aktivitas antibakteria dan retensi protein tepung cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) sebagai aditif pakan dengan taraf penambahan kitosan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner (JITV)* 13:182-188.
- Steel, R. G. D. & J. H. Torrie.** 1986. *Principles and Procedures of Statistics.* Mc Graw Hill Book Co. Inc., New York.
- Wang, C., Z. Sun, Y. Q. Liu, X. Zhang, & G. Xu.** 2007. A novel antimicrobial vermipeptide family from earthworm *Eisenia foetida*. *Eur. J. Soil Biol.* 43:S127-S134 [Abstr.].
- Yang, Y., P. A. Iji, & M. Choct.** 2009. Dietary modulation of gut microflora in broiler chicken: a review of the role of six kinds of alternatives to feed antibiotics. *World's Poult. Sci. J.* 65: 97-114.