



PENGARUH PEMBERIAN PROBIOTIK BAKTERI ASAM LAKTAT (*Lactobacillus* sp.) TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT, HETEROFIL, EOSINOFIL DAN MONOSIT AYAM BROILER

Theresia Ayu Verawati^{1*}, Heru Nurcahyo¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta, Indonesia

*corresponding author: theresia2969fmipa.2018@student.uny.ac.id

Abstrak. Probiotik adalah mikroorganisme hidup non-patogen yang dapat menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan. Bakteri asam laktat (BAL) sebagai agen probiotik dilaporkan mampu meningkatkan sistem kekebalan hewan ternak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian probiotik bakteri asam laktat (*Lactobacillus* sp.) terhadap jumlah leukosit meliputi limfosit, heterofil, eosinofil, dan monosit ayam broiler. Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental. Desain yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas kelompok kontrol dan 1 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri atas 20 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu R0 (kontrol) dan R1 (BAL) yang diujikan pada ayam broiler umur 1 (*day old chicken*) hingga umur 28 hari. Prosedur kerja meliputi preparasi BAL, pembuatan *freeze drying*, persiapan kandang, pemeliharaan ayam broiler, dan pengambilan darah. Data dianalisis menggunakan uji *Mann Whitney* dengan taraf signifikansi 0,05. Hasil penelitian menunjukkan ada perbedaan nyata jumlah limfosit dan eosinofil ($P < 0,05$) namun tidak pada jumlah heterofil dan monosit ($P > 0,05$) antar kelompok. Pemberian *Lactobacillus* sp. mampu menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan ayam broiler, namun keberadaannya tidak direspon sebagai bakteri yang membahayakan bagi ayam broiler.

Kata kunci: Ayam broiler, *Lactobacillus* sp., leukosit, probiotik.

THE INFLUENCE OF LACTIC ACID BACTERIA (*Lactobacillus* sp.) AS PROBIOTICS ON THE NUMBER OF LYMPHOCYTES, HETEROPHIL, EOSINOPHYL AND MONOCYTE IN BROILER CHICKEN

Abstract. Probiotics are non-pathogenic microorganisms that can balance microflora in the digestive tract. The use of lactic acid as a probiotic agent can improve the immune system of farm animals. This study aims to determine the effect of lactic acid bacterias (*Lactobacillus* sp.) on the number of leukocytes including lymphocytes, heterophils, eosinophils, and monocytes in broiler chickens. This research was an experimental study, using a completely randomized design with 1 control and 1 treatment groups. Each treatment group consisted of 20 replications. The treatments used were R0 (control) and R1 (Lactic Acid Bacteria) which were tested on broiler chickens aged 1 day old until 28 days old. The working procedure includes preparation of lactic acid bacteria, manufacturing freeze drying, preparation of cages, rearing of broiler chickens, and taking blood. Data analysis used the *Mann Whitney* test with a significance level of 0.05. The results showed there was significant difference on the number of lymphocytes and eosinophils ($P < 0.05$), but not on the number of heterophils and

monocytes ($P > 0.05$). The administration of *Lactobacillus* sp. was able to balance the microflora in the digestive tract of broiler chickens, nonetheless these bacteria are also not perceived as dangerous by immune system.

Keywords: *Broiler chicken, Lactobacillus* sp., *leukocyte, probiotic.*

PENDAHULUAN

Probiotik adalah mikroorganisme hidup non-patogen yang dapat meningkatkan kesehatan ternak dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan. Beberapa penelitian menggunakan probiotik untuk makanan tambahan atau *feed additive* untuk menunjang produktifitas unggas. Keuntungan penggunaan probiotik yaitu mampu mengurangi kemampuan mikroorganisme patogen dalam memproduksi toksin, menstimulasi enzim pencernaan, menghasilkan vitamin dan substansi antimikrobial, serta mampu menstimulasi peningkatan ketersediaan zat gizi bagi inang (Sumarsih, *et al.*, 2012). Beberapa senyawa toksik yang dihasilkan oleh probiotik seperti asam laktat, hidrogen peroksida, bakteriosin, antimikroba, dan antibiotik mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen (Saputro, *et al.*, 2013). Dwi, *et al.* (2013), menyatakan bahwa agen probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan manusia dan hewan berasal dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*.

Jumlah diferensial leukosit dapat menggambarkan status kesehatan pada tubuh ayam broiler. Diferensial leukosit terdiri dari limfosit, heterofil, eosinofil, dan monosit. Limfosit bekerja dengan merespon adanya antigen dengan membentuk antibodi. Heterofil berfungsi sebagai pertahanan awal terhadap peradangan dalam tubuh yang disebabkan oleh infeksi penyakit. Meningkatnya jumlah heterofil disebabkan adanya penyakit yang masuk ke tubuh. Eosinofil berfungsi sebagai respon parasitik, peradangan, dan alergi. Eosinofil bekerja dengan menyerang dan menghancurkan bakteri patogen, serta mampu menghasilkan enzim yang dapat menetralkan faktor radang. Monosit berperan sebagai makrofag yaitu menelan dan menghancurkan patogen. Monosit dimobilisasi bersama dengan heterofil sehingga disebut sebagai pertahanan kedua terhadap peradangan.

Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa pemberian probiotik dalam dosis tertentu mampu meningkatkan kekebalan tubuh ayam broiler dibuktikan dengan meningkatkan jumlah leukosit dalam darah. Berdasarkan permasalahan tersebut, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian probiotik bakteri asam laktat/BAL (*Lactobacillus* sp.) terhadap jumlah limfosit, heterofil, eosinofil, dan monosit pada ayam broiler.

METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen untuk membuktikan pengaruh BAL sebagai probiotik terhadap jumlah leukosit. Desain yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas kelompok kontrol dan 1 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 20 ulangan. Pengelompokan dilakukan secara random dengan ragam perlakuan kelompok kontrol (R0) tanpa perlakuan dan kelompok perlakuan (R1) yang diberi BAL 10^9 cfu/ml sejak ayam berumur 1 sampai 28 hari. Penelitian dilakukan pada bulan Januari-April 2022 di Laboratorium Mikrobiologi dan *Animal House* FMIPA UNY.

Subjek dalam penelitian ini adalah 40 ekor ayam broiler umur 1 hari. Prosedur kerja meliputi sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media MRS (*de Man, Rogosa, and Sharpe*) Agar, pembuatan media MRS (*de Man, Rogosa, and Sharpe*) Broth, pembuatan *Skim Milk* (10%), pembuatan *Pepton Water* (0,1%), peremajaan BAL, pembuatan *Freeze Drying*, penentuan dosis perlakuan, persiapan kandang, perlakuan pada ayam, dan pengambilan sampel darah.

Data yang diperoleh mengenai jumlah leukosit yaitu jumlah limfosit, heterofil, eosinofil, dan monosit selanjutnya dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Analisis kuantitatif menggunakan uji statistika non-parametrik *Mann Whitney* dengan taraf signifikansi 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Probiotik diberikan dengan dosis 10^9 cfu/ml, mengacu pada beberapa sumber yang salah satunya dikemukakan oleh Usman, *et al.* (2018), dimana jumlah bakteri asam laktat yang terkandung dalam produk agar dapat memberikan manfaat kesehatan setidaknya mengandung 10^7 - 10^9 cfu/ml agar dapat bersaing dengan mikroba lainnya. Pemberian perlakuan mulai dilakukan saat ayam berumur 1 hari – *day old chicken* – (DOC). Perlakuan diberikan sehari sekali selama 28 hari.

Setelah dipelihara selama 28 hari, ayam broiler R0 dan R1 memiliki pertumbuhan yang baik. Ayam broiler nampak gemuk dengan bobot mencapai 2 kg. Kondisi fisik ayam broiler terlihat sehat ditandai dengan mata yang jernih, dapat berdiri tegak, kaki normal, tidak ada kelainan bentuk maupun cacat fisik, serta bentuk dada lebar dengan timbunan daging yang padat. Respon tubuh ayam broiler masih baik, ketika diberi makan ayam akan merespon dengan cepat menghampiri makanan tersebut. Maka dari itu ayam broiler bisa dikatakan sehat, baik dari kelompok R0 maupun kelompok R1.

Hasil

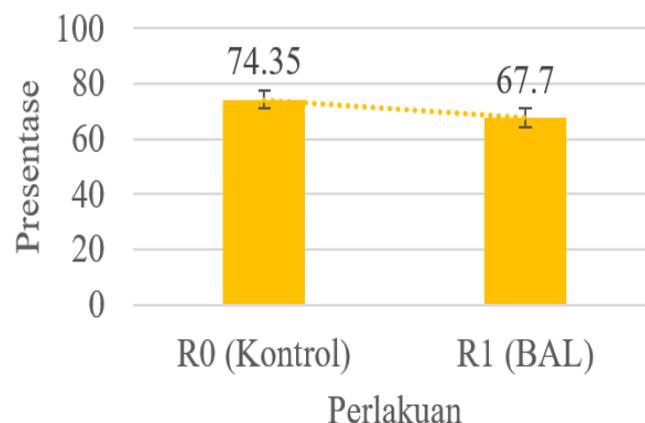
Total limfosit, heterofil, eosinofil, dan monosit yang dipelihara selama 28 hari disajikan sebagai rata-rata pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase Limfosit, Heterofil, Eosinofil, dan Monosit Setela

Variabel	Perlakuan	
	R0 (Kontrol)	R1 (BAL)
Limfosit (%)	74,35 ^a	67,70 ^b
Heterofil (%)	18,23 ^a	18,65 ^a
Eosinofil (%)	5,47 ^a	11,20 ^b
Monosit (%)	1,70 ^a	1,95 ^a

Keterangan: superskrip^{a,b} yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Limfosit

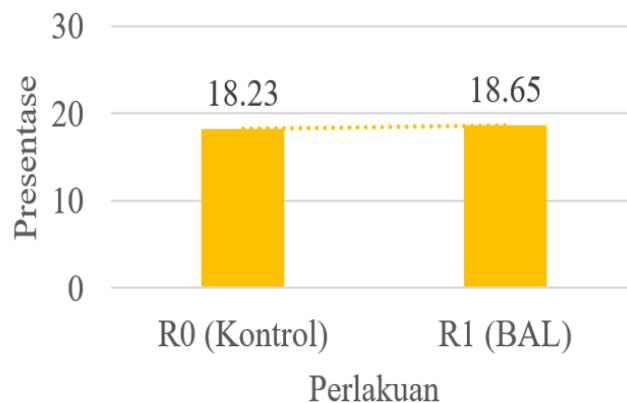


Gambar 1. Diagram Persentase Limfosit Ayam Broiler

Berdasarkan hasil analisis statistik pemberian probiotik *Lactobacillus* sp. pada ayam broiler memberikan pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) terhadap persentase limfosit darah ayam broiler umur 28 hari. Hasil penelitian ini menunjukkan persentase limfosit pada R0 dan R1 memiliki rerata 74,35% dan 67,70%. Pada gambar 1 terlihat persentase limfosit kelompok perlakuan lebih rendah daripada kontrol. Namun persentase ini masih berada diatas kisaran normal jumlah limfosit dalam darah. Menurut Harahap (2014), persentase normal limfosit pada darah unggas berkisar 42-66%.

Heterofil

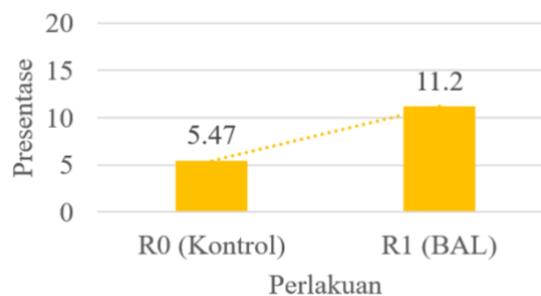
Berdasarkan hasil analisis statistik persentase heterofil pada ayam broiler umur 28 hari tidak menunjukkan hasil yang signifikan ($P > 0,05$). Hasil rerata persentase heterofil pada kelompok R0 18,23% dan R1 18,65% (Gambar 2), dimana hal ini berada dibawah kisaran angka normal heterofil pada unggas. Menurut Hendro, *et al.* (2013) persentase heterofil normal pada darah ayam broiler berkisar 20-40%.



Gambar 2. Diagram Persentase Heterofil Ayam Broiler

Pada gambar 2 nampak bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi perlakuan BAL. Hal ini membuktikan bahwa pemberian BAL tidak mempengaruhi persentase heterofil.

Eosinofil

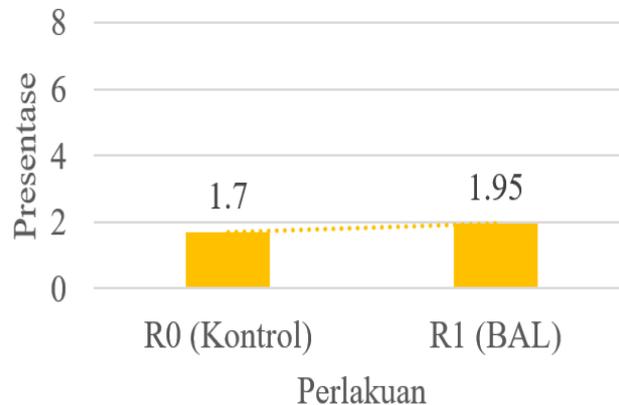


Gambar 3. Diagram Persentase Eosinofil Ayam Broiler

Berdasarkan hasil analisis statistik persentase eosinofil pada ayam broiler umur 28 hari menunjukkan hasil berbeda nyata yang signifikan ($P < 0,05$). Persentase eosinofil pada kelompok R0 5,47% dan R1 11,20% (Gambar 3). Jumlah eosinofil pada kelompok perlakuan melampaui kisaran normal. Menurut Purnomo, *et al.* (2015), jumlah eosinofil normal pada ayam berkisar 2-8% dari jumlah total leukositnya. Tingginya persentase eosinophil kelompok

perlakuan yang terlihat jelas pada gambar 3 membuktikan bahwa pemberian BAL pada ayam broiler dapat mempengaruhi jumlah eosinofil.

Monosit



Gambar 4. Diagram Persentase Monosit Ayam Broiler

Berdasarkan hasil statistik diketahui bahwa pemberian BAL pada ayam broiler umur 28 hari tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap persentase monosit. Persentase monosit R0 1,70% dan R1 1,95%. Jumlah ini berada dibawah kisaran normal monosit. Jumlah monosit normal pada ayam berkisar 3-10% dari jumlah leukosit (Eroschenko, 2008). Pada gambar 4 terlihat bahwa persentase monosit kelompok perlakuan yang lebih tinggi dari kontrol, namun selisihnya tidak signifikan. Sehingga dari diagram tersebut dapat diketahui bahwa pemberian BAL pada ayam broiler tidak mempengaruhi jumlah monosit.

Pembahasan

Pada penelitian ini, jumlah limfosit kedua kelompok yaitu R0 dan R1, keduanya menunjukkan persentase diatas kisaran normal. Tingginya jumlah limfosit pada kelompok R0 bisa dimungkinkan karena ayam pada kelompok tersebut terkena infeksi bakteri akibat *litter* yang kotor. Penggunaan lantai *litter* pada kandang ayam broiler dapat memicu penumpukan amonia sehingga dapat memicu pertumbuhan bakteri yang bisa mengganggu kesehatan ayam broiler. Hal serupa juga terjadi pada kelompok R1. Meskipun persentase limfositnya lebih rendah, namun masih berada diatas kisaran normal persentase limfosit. Rendahnya persentase limfosit setelah diberi perlakuan BAL 10^9 cfu/ml membuktikan bahwa pemberian probiotik mampu menekan pertumbuhan bakteri lainnya. Hal ini didukung oleh Suardana (2013) dan Suardana (2017), bahwa mikroba probiotik menghasilkan produk anti mikrobal yang disebut bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa protein yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain.

Pada penelitian ini tidak ada perbedaan jumlah heterofil R0 dan R1 yang signifikan. Persentase heterofil berada dibawah kisaran normal yang artinya tidak ada indikasi infeksi bakteri. Pemberian *Lactobacillus* sp. tidak meningkatkan jumlah heterofil, sehingga dapat dikatakan bahwa heterofil tidak merespon keberadaan *Lactobacillus* sp. sebagai mikroba yang membahayakan. Di dalam duodenum terdapat epitel yang berkolumnar dengan mikrovili *brush border* yang berperan membantu reabsorpsi sari-sari makanan. Bakteri-bakteri yang ada pada usus hidup di mikrovili, tak jarang bakteri ini masuk ke dalam epitel mukosa dimana hal ini akan memicu respon kekebalan leukosit (Brooks, *et al.*, 2008). BAL hidup dan berkembang di mikrovili sehingga keberadaannya tidak akan merangsang pembentukan heterofil. BAL memanfaatkan glukosa yang terdapat dalam sari-sari makanan untuk kemudian diubahnya menjadi asam laktat dan bakteriosin. Asam laktat dapat membuat pH dalam usus menjadi

rendah sehingga bakteri-bakteri yang tidak tahan dengan pH rendah akan mati. Begitu juga bakteriosin yang bekerja sebagai antimikroba akan membuat bakteri-bakteri yang tidak menguntungkan akan mati terseleksi oleh keberadaan BAL. Hal ini lah yang menyebabkan tidak adanya kenaikan pada persentase heterofil.

Persentase eosinofil pada penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih tinggi secara signifikan setelah diberi perlakuan BAL. Eosinofil dimungkinkan merespon keberadaan BAL sebagai antigen sehingga persentase eosinofil naik. Namun, belum dapat dipastikan hal ini disebabkan oleh keberadaan BAL, bisa juga disebabkan oleh faktor lingkungan. Menurut Purnomo, *et al.*, (2015), tingginya persentase eosinofil dalam darah belum dapat diasumsikan bahwa ayam broiler berada dalam kondisi yang sakit. Namun, tingginya jumlah eosinofil dapat menunjukkan berfungsinya sistem pertahanan tubuh dalam menghadapi infeksi penyakit.

Hasil pada penelitian ini menunjukkan jumlah monosit yang berada di bawah kisaran normal, baik pada kelompok R0 maupun R1. Hal tersebut disebabkan oleh persentase limfosit yang tinggi sehingga selaras dengan jumlah monositnya karena aktivitas makrofag meningkat. Rendahnya persentase monosit pada penelitian ini karena tubuh ayam broiler tidak merespon keberadaan BAL sebagai bakteri yang membahayakan sehingga monosit sebagai pertahanan kedua tidak perlu digunakan. Keberadaan BAL dalam mikrovili bisa membantu menyeimbangkan mikroflora dalam usus dengan cara menghasilkan asam laktat dan bakteriosin. Bakteri-bakteri yang ada pada usus hidup di mikrovili, tak jarang bakteri ini masuk ke dalam epitel mukosa dimana hal ini akan memicu respon kekebalan leukosit (Brooks, *et al.*, 2008). BAL hidup dan berkembang di mikrovili sehingga keberadaannya tidak akan merangsang pembentukan monosit.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa pemberian probiotik bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. berpengaruh nyata terhadap jumlah limfosit dan eosinofil, namun tidak berpengaruh nyata terhadap heterofil dan monosit. Persentase limfosit mengalami penurunan, hal ini karena pemberian *Lactobacillus* sp. mampu menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan ayam broiler. Heterofil dan monosit tidak mengalami perubahan karena tubuh ayam broiler tidak merespon keberadaan BAL sebagai bakteri yang membahayakan. Terdapat kenaikan eosinofil sebagai respon pertahanan tubuh terhadap serangan parasit.

DAFTAR PUSTAKA

- Brooks, G. F., Janet, S. B., Stephen, A. M. (2008). *Mikrobiologi Kedokteran: Jawetz, Melnick, & Adelberg*. Jakarta: EGC.
- Dwi, I., Risa, N., Puji, A. (2013). Karakteristik Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus* sp. REDI dari Cincalok Formulasi. *Jurnal Kimia*, 1, 1.
- Eroschenko, V. P. (2008). *Di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations (Edisi Kesebelas)*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Harahap, R. A. (2014). *Profil Darah Ayam Broiler Periode Finisher yang Diberi Pakan Plus Formula Herbal*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hendro, L., Adriani, & Latipudin. D. (2013). *Pengaruh Pemberian Lengkuas (Alpinia galanga) terhadap Kadar Neutrofil dan Limfosit Ayam Broiler*. Disajikan dalam Prosiding Seminar Nasional Peternakan.
- Purnomo, D., Sugiharto, & Isroli. (2015). Total Leukosit dan Diferensial Leukosit Darah Ayam Broiler Akibat Penggunaan Tepung Onggok Fermentasi *Rhizopus oryzae* pada Ransum. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan*, 25, 59-68.

- Saputro, B., Santoso, P. E. & Kurtini, T. (2013). Pengaruh Cara Pemberian Vaksin ND Live pada Broiler terhadap Titer Antibodi, Jumlah Sel Darah Merah dan Sel Darah Putih. *J. Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2, 43-48.
- Suardana, I. W. (24 September 2013). *Potensi Isolat Lactobacillus brevis Asal Cairan Rumen Sapi Bali sebagai Sumber Senyawa Antimikroba*. Disajikan dalam Prosiding Seminar Nasional Sapi, di Bali.
- Suardana, I. W., Hana, K. A. S., & Suarsana, I. W. (2017). Karakteristik Fisikokimia Bakteriosin Asal Bakteri Asam Laktat *Enterococcus durans* Hasil Isolasi Kolon Sapi Bali. *Buletin Veteriner Udayana*, 9, 209-215.
- Sumarsih, S., Sulistiyanto, B., Sutrisno, C. I., & Rahayu, E. S. (2012). Peran Probiotik Bakteri Asam Laktat terhadap Produktifitas Unggas. *Jurnal Litbang*, 10, 1-9.
- Usman, N. A., Kusmajadi, S. (2018). Pengaruh Konsentrasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* terhadap Mutu Mikrobiologi dan Kimia Mayones Probiotik. *Jurnal Ilmu Ternak*, 18, 17-23.