

Penggunaan Probiotik untuk Pengendalian *Clostridial Necrotic Enteritis* pada Ayam Pedaging

LILY NATALIA dan ADIN PRIADI

Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

(Diterima dewan redaksi 11 Februari 2005)

ABSTRACT

NATALIA, L. and A. PRIADI. 2005. Utilization of probiotics for controlling clostridial necrotic enteritis in broiler chickens. *JITV* 10(1): 71-78.

Clostridial necrotic enteritis (CNE) is a common disease among rapidly growing broiler chickens. The purpose of this trial was to study the utilisation of probiotics in controlling experimental CNE in broiler chickens. Chicken normal gut bacterial flora (mucosal starter culture selective/MCS) was used as a competitive exclusion treatment in broiler chicken and its influence to the occurrence of clostridial necrotic enteritis were observed. The study comprised of 4 broiler cages treatments of probiotics (2 different dose of MCS, commercial probiotic, 1 cage untreated as control). Probiotics were given orally upon arrival. All groups were given live coccidial vaccine (as predisposing factor for CNE) and challenged with 10^8 *Clostridium perfringens* tipe A and C spores on day 10 and 12. The results showed that the probiotics could reduced the incidence and severity of CNE after challenge and improved the performance of chickens treated. Untreated group showed 40% of the mortality due to CNE, and 30% of the chicken showed subclinical necrotic enteritis (SNE).

Key Words: Clostridial Necrotic Enteritis, Probiotics, Broiler Chicken

ABSTRAK

NATALIA, L. dan A. PRIADI. 2005. Penggunaan probiotik untuk pengendalian *clostridial necrotic enteritis* pada ayam pedaging. *JITV* 10(1): 71-78.

Clostridial necrotic enteritis (CNE) merupakan penyakit yang umum pada ayam pedaging dengan tingkat pertumbuhan yang cepat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari penggunaan beberapa jenis probiotik dalam pengendalian CNE eksperimen pada ayam pedaging. Flora bakteri usus ayam normal yang telah diseleksi (*mucosal starter culture selective*/MCS) digunakan dalam metoda *competitive exclusion* pada ayam pedaging yang diamati pengaruhnya terhadap kejadian *clostridial necrotic enteritis*. Penelitian ini menggunakan 4 kelompok ayam yang diberi probiotik (2 dosis MCS yang berbeda, 1 probiotik komersial, dan 1 kandang yang tidak diberi probiotik sebagai kontrol). Ayam diberi probiotik per oral pada saat tiba di kandang. Semua kelompok ayam diberikan vaksin hidup koksidia (sebagai faktor predisposisi untuk CNE) dan ditantang dengan 10^8 spora *Clostridium perfringens* tipe A dan C pada hari ke 10 dan 12. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa probiotik dapat menurunkan kejadian dan keparahan *clostridial necrotic enteritis* setelah ditantang dan memperbaiki bobot hidup ayam. Kelompok yang tidak mendapatkan probiotik memperlihatkan 40% kematian karena CNE, dan 30% *subclinical necrotic enteritis* (SNE).

Kata Kunci: *Clostridial Necrotic Enteritis*, Probiotik, Ayam Pedaging

PENDAHULUAN

Penyakit *clostridial necrotic enteritis* (CNE) telah diketahui menimbulkan kerugian ekonomi bagi industri perunggasan (SLUIS, 2000a; KALDHUSDAL, 2000b). Kasus *clostridial necrotic enteritis* pada ayam disebabkan oleh *Clostridium perfringens* (*Cl. perfringens*) tipe A dan C (TAKEDA *et al.*, 1995; KALDHUSDAL dan SKJERVE, 1996). Di Indonesia, kasus *necrotic enteritis* pada ayam pedaging maupun petelur dan burung unta sudah sering ditemukan (SETYONO, 1992; NATALIA, 1999; HADI, 1999; INFOVET, 2003).

Cl. perfringens merupakan mikroorganisme yang biasa ditemukan secara normal pada ayam sehat. Dalam

keadaan tertentu, bakteri ini akan meningkat populasinya dan menghasilkan toksin. Secara umum, belum banyak yang diketahui mengenai cara *Cl. perfringens* menyebabkan CNE pada unggas, meskipun toksin yang dihasilkan bakteri ini telah banyak diketahui. Penelitian-penelitian telah membuktikan peranan toksin alfa dari *Cl. perfringens* dalam kejadian CNE (AL-SHEIKHLY dan TRUSCOTT, 1977; PRESCOTT, 2000; KOHLER, 2000). Peningkatan populasi *Cl. perfringens* dalam usus akan disertai dengan pembentukan enterotoksin yang menyebabkan kematian ayam (LAWRENCE, 1986; TAKEDA *et al.*, 1995; KALDHUSDAL dan SKJERVE, 1996).

Penyakit ini dipredisposisikan oleh berbagai macam faktor seperti koksidirosis, pakan kaya protein hewani, iritasi usus oleh berbagai sebab dapat memicu kejadian *necrotic enteritis* (NE) (NEWMAN, 2000; KALDHUSDAL, 2000a). Koksidirosis dan berbagai penyebab iritasi usus dapat menyebabkan daerah nekrotik yang merupakan tempat yang baik untuk berkembangnya *Cl. perfringens*. Pada keadaan normal, enzim dalam lambung hewan seperti tripsin dapat menetralkan toksin alfa dan beta yang dihasilkan *Cl. perfringens*. Pemberian bahan pakan seperti kacang kedelai dan biji-bijian lain yang mengandung tripsin inhibitor akan menyebabkan tripsin tidak dapat memecah toksin alfa dan beta dari *Cl. perfringens*, sehingga menimbulkan CNE dan kematian. Kematian karena penyakit ini pada ayam cukup bervariasi yakni dari 34,8 hingga 62,0% (SCHWARTZ, 1977; FICKEN dan WAGES, 1997; KALDHUSDAL dan SKJERVE, 1996).

Selama ini, penanggulangan CNE dilakukan dengan pemberian berbagai macam antibiotika dari dosis rendah (untuk pencegahan) sampai dosis tinggi (untuk pengobatan). Cara pencegahan penyakit semacam ini dapat menimbulkan resistensi kuman. Pada saat ini telah banyak ditemukan galur-galur bakteri yang resisten terhadap antibiotik (termasuk *Cl. perfringens*). Oleh sebab itu, beberapa negara Eropa telah melarang penggunaan antibiotik untuk pencegahan penyakit pada ayam (NORTON, 2000; NEWMAN, 2000). Dari laporan kasus di lapang, sering ditemukan *Cl. perfringens* yang resisten terhadap berbagai antibiotik seperti golongan penisilin, basitrasin, lincomisin dan sebagainya (DEVRIESE *et al.*, 1993, WATKINS *et al.*, 1997; MARTEL *et al.*, 2003).

Penggunaan probiotik sebagai usaha untuk mengatasi infeksi dari mikroorganisme patogen dengan dasar *competitive exclusion* telah dilakukan beberapa peneliti (NISBET *et al.*, 1996, MORNER *et al.*, 1999; KALDHUSDAL dan LOVLAND, 2002). Penggunaan atau pemberian mikroflora normal dari usus ayam dewasa yang sehat untuk memperbaiki performans ayam juga telah dilakukan dengan hasil yang sangat baik (APAJALAHTI, 1999; KALDHUSDAL *et al.*, 2001; IVANOV, 2004). Pemberian mikroflora tersebut dapat efektif untuk mengurangi pengaruh buruk dari mikroorganisme patogen saluran pencernaan pada ayam.

NISBET *et al.* (1997) dan CORRIER *et al.* (1998) meneliti penggunaan probiotik untuk pengendalian Salmonellosis pada ayam. Hasilnya menunjukkan bahwa probiotik dapat menghambat kolonisasi Salmonella dan menurunkan tingkat kematian akibat *Salmonella gallinarum*. Penggunaan probiotik untuk pengendalian CNE juga telah dipelajari (HOFACRE *et al.*, 1998; KALDHUSDAL *et al.*, 2001). Hasil

menunjukkan bahwa probiotik dapat mengurangi lesi, tingkat kematian akibat CNE dan memperbaiki performans ayam. CRAVEN *et al.* (1999) juga melaporkan bahwa probiotik yang diisolasi dari ayam sehat dapat menurunkan proliferasi *Cl. perfringens*, penyebab CNE pada unggas.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan probiotik dan cara penggunaannya dalam pengendalian/mengatasi masalah CNE pada unggas khususnya ayam pedaging.

MATERI DAN METODE

Probiotik yang digunakan

Mikroorganisme untuk probiotik diambil dari mukus sekum ayam dewasa yang sehat (CRAVEN *et al.*, 1999). Kultur ditumbuhkan pada *Brain Heart Infusion (BHI) Broth* dan *Robertson's Cooked Meat Medium* selama 2 hari pada suhu 37°C. Kultur yang tumbuh, diisolasi dan diseleksi untuk dapat digunakan sebagai probiotik. Kandidat probiotik adalah bakteri yang bersifat gram positif, dan non patogen. Bakteri yang patogen dan non patogen dibedakan dengan *congo red* (PANIGRAPHY dan LING, 1990; BERKHOFF dan VINAL, 1985). Kultur bakteri ini selanjutnya digunakan sebagai probiotik dan dinamakan *Mucosal starter Culture Selective* (MCS). Isolat bakteri dalam MCS ini kemudian diidentifikasi genus dan spesiesnya dengan menggunakan API 50 CHB, API 50 CHL dan API 20 A system (BioMerieux, France). Kultur yang digunakan sebagai probiotik minimum diberikan sebanyak 10¹⁰ CFU/ekor anak ayam (PAL, 1999) dan diberikan per oral. (Untuk ini dipersiapkan *stock culture* 10¹¹ CFU/ml).

Probiotik komersial untuk ayam (Preempt, Bio Science, USA) terdiri atas 15 galur bakteri fakultatif anaerobik dan 14 galur obligat anaerobik dari berbagai genus (NISBET *et al.*, 1998).

Percobaan pada ayam

Ayam yang akan digunakan, sebelumnya telah dilakukan program vaksinasi yang umum digunakan yaitu vaksin *Newcastle Disease* (ND), *Infectious Bursal Disease* (IBD) dan *Infectious Bronchitis* (IB) pada umur 3 hari. Dalam penelitian, sebanyak 80 ekor ayam pedaging umur sehari dibagi dalam empat kelompok (masing-masing kelompok terdiri atas 20 ekor ayam), dan diberi perlakuan seperti yang tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Pembagian kelompok ayam dan perlakuan yang diberikan

Kelompok	Probiotik	Pemberian pada umur (hari)	Tantangan <i>Cl. perfringens</i> ** (hari ke)
I	MCS 0,1 ml	1 dan 3	10 dan 12
II	MCS 0,25 ml	1 dan 3	10 dan 12
III	Preempt	1 dan 3	10 dan 12
IV	Tanpa probiotik (kontrol)	-	10 dan 12

** *Cl. perfringens* tipe A dan C 10⁸ spora/ekor per oral

Pengamatan setelah perlakuan

Pengamatan dilakukan selama 2 bulan meliputi pertambahan bobot hidup ayam, jumlah kematian ayam dan perubahan patologik dari tiap kelompok perlakuan. Jika ayam tidak mati pada akhir pengamatan, ayam dibunuh dan diamati perubahan patologiknya. Skoring atau penilaian perubahan patologik pada usus yang mengarah kepada *necrotic enteritis*, dilakukan menurut SLUIS (2000b).

- 0 = tidak ada kerusakan
- 1 = perubahan ringan (ulkus bersifat fokal)
- 2 = perubahan sedang (ulkus menyatu membentuk bercak)
- 3 = perubahan/kelainan berat (nekrose pada mukosa usus menyebar)
- 4 = nekrose pada seluruh permukaan usus dan pembentukan gas

Deteksi *Cl. perfringens* enterotoksin

Usus halus bagian jejunum dan ileum yang mengalami perubahan (sepanjang 10 cm), diambil mukosanya. Kemudian ditambahkan larutan PBS dalam volume yang sama. Selanjutnya dihancurkan dengan *stomacher*. Sampel yang telah dihomogenkan disentrifus pada 1300 xg selama 20 menit pada suhu 4°C. Supernatan disaring dan diuji dengan uji lateks aglutinasi. Dalam uji ini, partikel lateks dilapisi dengan antibodi spesifik terhadap toksin alfa dan beta *Cl. perfringens*. Toksin yang ada pada sampel yang diuji ditunjukkan dengan adanya reaksi aglutinasi. Kemampuan mengaglutinasi dari supernatan dikalkulasi dan dilaporkan gambaran jumlah enterotoksin *Cl. perfringens*/gram usus.

Penghitungan *Cl. perfringens* dari sekum

Penghitungan dilakukan dengan pengenceran seri menggunakan media lempeng agar darah. Sampel diencerkan secara desimal dan tiap 100 µl ditumbuhkan pada media agar. Perbandingan hasil pengamatan dari ayam yang mendapat probiotik dan tanpa probiotik menggambarkan kemampuan probiotik mencegah terjadinya *necrotic enteritis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Probiotik

Dari usus 3 ekor ayam sehat berhasil diisolasi 29 isolat bakteri yang bersifat gram positif dan non patogen. Identifikasi bakteri MCS dengan menggunakan *congo red* menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat negatif/tidak terwarnai. Ke-29 spesies kuman tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Spesies kuman probiotik *mucosal starter culture selective* (MCS)

Spesies kuman	Jumlah isolat
<i>Bacillus cereus</i>	5
<i>Bacillus firmus</i>	1
<i>Bacillus licheniformis</i>	1
<i>Bacillus mycoides</i>	1
<i>Bacillus pumilus</i>	4
<i>Bacillus sphaericus</i>	3
<i>Bacillus subtilis</i>	1
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1
<i>Lactobacillus lactis subsp. lactis</i>	1
<i>Lactobacillus raffinolactis</i>	2
<i>Lactobacillus salivarius</i>	5
<i>Lactobacillus sporogenes</i>	1
<i>Pedio damnosus</i>	2
<i>Streptococcus faecalis</i>	1

Percobaan pemberian probiotik

Data hasil pengamatan selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 1 berupa kenaikan bobot hidup ayam selama penelitian, Gambar 2 tentang kejadian CNE dan SNE pada ayam pedaging setelah ujiantang, Tabel 3 tentang hasil penilaian perubahan patologi pada ayam dan Tabel 4 tentang hasil deteksi toksin dan penghitungan *Cl. perfringens* dari ayam yang mati akibat CNE.

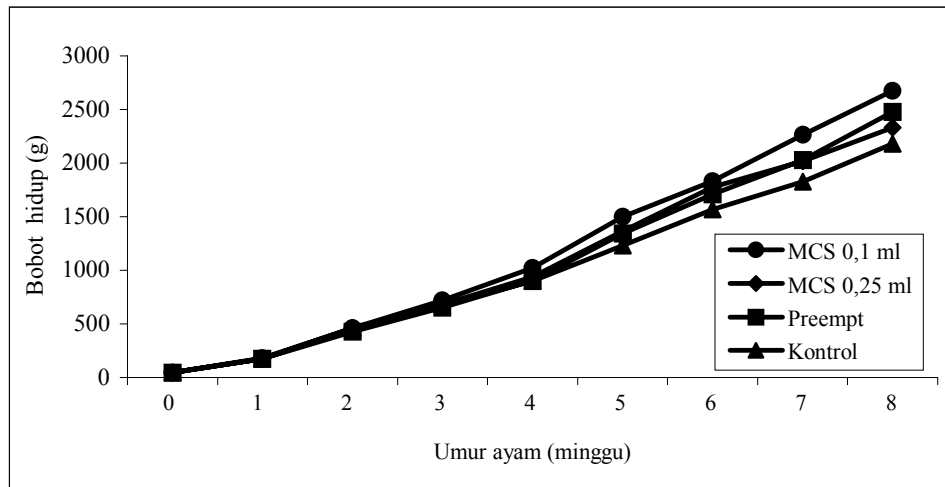
Pada penelitian ini, probiotik yang terdiri dari 29 kuman non patogen diberikan pada ayam yang baru

menetas untuk mendapatkan efek *competitive exclusion* (CE) terhadap kejadian CNE akibat enterotoksemia *Cl. perfringens* seperti yang pernah dilaporkan oleh KALDHUSDAL *et al.* (2001) dan HOFACRE *et al.* (1998). CE adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan efek protektif bakteri normal usus dalam membatasi kolonisasi kuman patogen pada ayam (MORNER *et al.*, 1999).

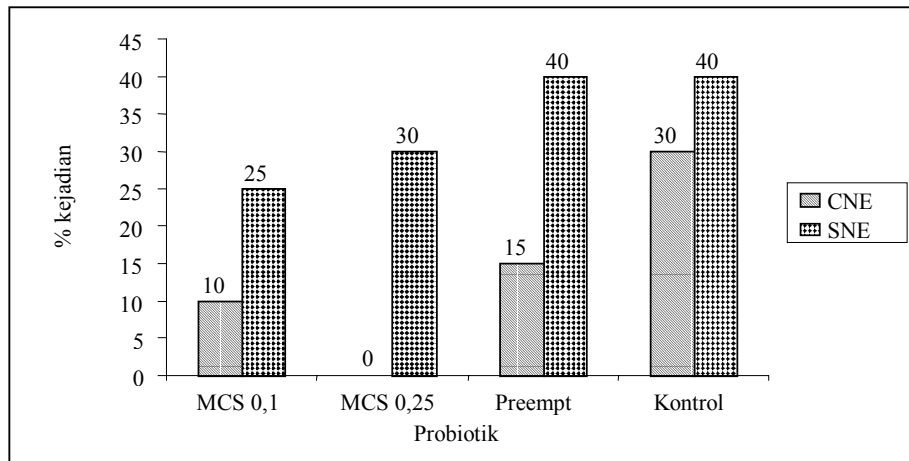
Pada pengamatan pertambahan bobot hidup per minggu terlihat bahwa ada perbedaan yang cukup besar antara rata-rata bobot hidup dari ayam yang diberi probiotik (kelompok I, II dan III) dan ayam yang tidak mendapatkan probiotik (kontrol). Perbedaan ini mulai tampak pada minggu ke lima dan makin nyata

perbedaan dengan bertambahnya umur ayam (Gambar 1).

Kematian ayam mulai terjadi pada saat 1 minggu setelah tantangan. Gejala diare juga mulai tampak pada beberapa ayam. Pada ayam yang menderita *Subclinical Necrotic Enteritis* (SNE) dapat dilihat bahwa ayam menderita diare, bobot hidup rendah (kurang dari 75% bobot hidup normal) dan jumlah *Cl. perfringens* yang tinggi dari fesesnya (1000 sampai 10.000 CFU/g isi usus). Secara normal, pada ayam yang sehat dapat ditemukan *Cl. perfringens* kurang dari 100 CFU/g isi usus (BABA *et al.*, 1997). Pada ayam yang menderita SNE biasanya tidak ditemukan adanya toksin *Cl. perfringens* yang tinggi pada isi usus.



Gambar 1. Hasil pengamatan bobot hidup ayam pada pemberian berbagai jenis dan dosis probiotik



Gambar 2. Kejadian CNE dan SNE pada ayam pedaging setelah ujiantang (n = 20)

Jumlah ayam yang mati karena CNE dan ayam yang menderita SNE dapat dilihat pada Gambar 2. Dari gambar hasil pengamatan tersebut dapat terlihat bahwa probiotik MCS mampu mengurangi kejadian CNE pada ayam. Kematian ayam pada kelompok MCS 0,1 ml, MCS 0,25 ml, Preempt dan kontrol masing-masing sebanyak 10, 0, 15 dan 30% (Gambar 2). KALDHUSDAL *et al.* (2001) menyatakan bahwa ayam yang diberi probiotik Broilact® menyebabkan turunnya angka kematian dari 5,8 hingga 4,3%. Pemberian MCS sebanyak 0,25 ml per DOC melindungi ayam lebih baik dibandingkan dengan dosis 0,1 ml ataupun probiotik komersial. Hal ini menunjukkan bahwa probiotik harus mencapai jumlah optimum agar dapat bekerja dengan baik (PAL, 1999).

Hasil pengamatan terhadap perubahan patologi anatomi yang menyolok akibat CNE adalah:

1. Kemerahan pada otot dari derajat yang ringan sampai berat (otot terlihat merah semuanya).
2. Pembengkakan hati, kantung empedu yang sangat mencolok yang disertai perubahan warna hati menjadi kekuningan. Hal ini sesuai dengan yang sering digambarkan sebagai *Clostridium perfringens associated-associated cholangohepatiti* (KALDHUSDAL dan LOVLAND, 2002; FICKEN dan WAGES, 1997).
3. Radang usus (enteritis *haemorrhagis* sampai enteritis nekrotik) dan nekrose pada mukosa usus menyebar sehingga terjadi penipisan dinding usus dan pembentukan gas dalam usus.

Pada ayam yang menderita *Subclinical Necrotic Enteritis* (SNE) dapat dilihat bahwa ayam menderita diare, bobot hidup rendah (kurang dari 75% bobot hidup normal) dan jumlah *Cl. perfringens* yang tinggi dari fesesnya (>1000 CFU/g). Nilai perubahan

patologik ayam yang mati karena CNE/SNE dapat dilihat pada Tabel 3.

Perbedaan pertambahan bobot hidup dari tiap kelompok sesuai dengan perubahan patologi pada kelompok ayam I, II, III, dan IV (kontrol) yang masing-masing menunjukkan nilai skor kerusakan: 14, 10, 22 dan 36 (Tabel 3). Pada nilai kerusakan usus yang tinggi, gangguan pencernaan dan penyerapan makanan terganggu. Akibatnya pertambahan bobot hidup ayam tidak sebaik yang diharapkan. Penggunaan atau pemberian mikroflora normal dari usus ayam dewasa yang sehat juga telah berhasil dilakukan untuk memperbaiki performans ayam dan melindungi ayam terhadap CNE (APAJALAHTI, 1999; KALDHUSDAL *et al.*, 2001).

Perubahan usus yang paling ringan ditemukan pada kelompok yang diberi MCS dengan dosis 0,25 ml. Pada kelompok ini juga tidak ditemukan ayam yang mengalami kerusakan mukosa yang disertai pembentukan gas. Sebanyak 70% ayam pada kelompok ini tidak mengalami perubahan usus dibandingkan dengan 65, 45 dan 30% masing-masing pada kelompok MCS 0,1 ml, Preempt dan kontrol. Perlindungan pada kelompok MCS 0,25 ml mungkin disebabkan karena jumlah dan komposisi kuman non-patogen dalam probiotik yang diberikan. Dosis probiotik MCS sebanyak $0,25 \times 10^{11}$ CFU per ekor ayam (MCS 0,25 ml) yang diberikan ayam umur sehari dan diulang pada umur 3 hari ternyata lebih mampu melindungi dibandingkan dengan dosis yang lebih kecil (MCS 0,1 ml). Hasil ini sesuai dengan pengamatan KALDHUSDAL *et al.* (2001) bahwa pemberian bakteri usus ayam dewasa normal dalam jumlah sedikitnya 10^{10} CFU/ekor dapat mengurangi kejadian CNE dan meningkatkan kinerja ayam broiler.

Tabel 3. Hasil penilaian (skoring) terhadap perubahan patologi pada ayam

Kelompok	Jumlah ayam dengan CNE/SNE (ekor)	Skor lesio					Jumlah skor untuk tiap kelompok
		0	1	2	3	4	
I 0,1 ml MCS	7 (35%)	13 (65%)	4 (20%)	1 (5%)	- (0%)	2 (10%)	14
II 0,25 ml MCS	6 (30%)	14 (70%)	3 (15%)	2 (10%)	1 (5%)	- (0%)	10
III Preempt	11 (55%)	9 (45%)	6 (30%)	2 (10%)	- (0%)	3 (15%)	22
IV Kontrol	14 (70%)	6 (30%)	5 (25%)	2 (10%)	1 (5%)	6 (30%)	36

- jumlah ayam per kelompok adalah 20 ekor

- skor 0 : ayam yang tidak mengalami CNE atau SNE

- skor 1 sampai 3 dengan jumlah *Cl. perfringens* >1000 CFU/g feses adalah ayam yang menderita SNE

- skor 4 dengan jumlah *Cl. perfringens* >1000 CFU/g feses adalah ayam yang mati karena CNE

Tabel 4. Deteksi toksin dan penghitungan *Cl. perfringens* dari ayam mati akibat CNE

Kelompok perlakuan	Dosis/jenis probiotik	Jumlah ayam mati akibat CNE (ekor)	Toksin α dan β <i>Cl. perfringens</i> pada usus	Jumlah <i>Cl. perfringens</i> (CFU/gram)
I	MCS 0,1 ml	2	α : >1024 ; β : > 1024 α : 512 ; β : > 1024	1,2 x 10 ⁸ 8,3 x 10 ⁷
II	MCS 0,25 ml	0	-	-
III	Preempt	3	α : 512 ; β : > 1024 α : 512 ; β : > 1024 α : 512 ; β : 512	10,7 x 10 ⁶ 7,5 x 10 ⁷ 7,4 x 10 ⁴
IV/kontrol	-	6	α :256 ; β : > 1024 α :128 ; β : > 1024 α :256 ; β : > 1024 α :512 ; β : > 1024 α :128 ; β : > 1024 α :>1024 ; β : > 1024	1,5 x 10 ⁸ 7,0 x 10 ⁶ 2,0 x 10 ⁸ 9,0 x 10 ⁷ 2,7 x 10 ⁷ 5,1 x 10 ⁷

Penggunaan probiotik komersial/Preempt tidak memberikan perlindungan sebaik probiotik MCS. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya kultur probiotik yang mati selama penyimpanan sehingga jumlahnya tidak mencukupi untuk melindungi permukaan usus ayam dan *competitive exclusion* tidak terjadi sempurna. Tetapi, dari hasil keseluruhan menunjukkan bahwa probiotik yang dibuat (MCS) dan Preempt dapat menurunkan atau mencegah kematian akibat CNE walaupun tidak memberi perlindungan 100% terhadap tantangan.

Hasil pemeriksaan/penilaian perubahan patologi dilakukan terhadap ayam yang mati karena CNE dan seluruh ayam hidup pada akhir percobaan (umur 8 minggu). Dari Tabel 3 terlihat bahwa jumlah skor kerusakan tertinggi terjadi pada kelompok kontrol (jumlah skor: 36) yang tidak mendapatkan probiotik. Sementara itu, jumlah skor terendah didapat pada kelompok ayam yang mendapatkan 0,25 ml MCS dengan jumlah skor 10. Makin tinggi nilai skor kerusakan usus, maka makin buruk perlindungan yang diberikan probiotik tersebut terhadap kejadian CNE/SNE setelah tantangan. Analisa terhadap data pada Tabel 3 juga dilakukan dengan Uji Kruskal Wallis (STEEL dan TORRIE, 1981). Pengaruh pemberian probiotik terhadap kerusakan usus dengan dosis 0,1 ml MCS maupun 0,25 ml MCS berbeda nyata dengan kontrol ($P < 0,05$). Demikian juga pengaruh probiotik komersial (Preempt) terhadap kerusakan usus berbeda nyata dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$).

Pada pemeriksaan mikroskopis terhadap usus dari ayam yang menderita SNE/CNE selain *Cl. perfringens* dan kuman usus pada umumnya, ditemukan juga protozoa dan coccidia. Uji bakteriologis menunjukkan adanya kandungan *Cl. perfringens* >1000 CFU/g isi

usus. Kematian ayam disebabkan karena kuman ini memproduksi toksin α dan β dalam jumlah yang sangat tinggi (Tabel 4). Uji aglutinasi lateks untuk mendeteksi toksin *Cl. perfringens* digunakan dalam penelitian ini untuk menggantikan uji konvensional *mouse protection test* yang tidak dapat digunakan untuk mendeteksi toksin α pada sampel asal ayam, karena ayam jauh lebih sensitif terhadap toksin ini dibandingkan mencit (KOHLENER, 2000).

Probiotik dilaporkan dapat mengaktifasi sistem *lactoperoxidase-thiocyanate* dalam saluran gastrointestinal, yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan juga mengakibatkan pH lingkungan yang rendah. Penurunan pH dapat mengakibatkan rusaknya membran seluler mikroorganisme gram negatif/bakteri patogen. Ada juga probiotik yang melepaskan mannan-oligosakarida yang diduga dapat mengaktifkan reseptor intestinal sehingga mencegah perlekatan atau kolonisasi bakteri patogen pada usus (IVANOV, 2004). Penelitian yang membandingkan penggunaan probiotik dan asam organik dengan antibiotik sebagai perangsang pertumbuhan, menunjukkan bahwa penggunaan probiotik merupakan suatu cara alternatif sebagai perangsang pertumbuhan meskipun tingkat pertumbuhannya tidak dalam jumlah yang sama (APAJALAHTI, 1999).

KESIMPULAN

Probiotik yang digunakan dalam penelitian dapat menurunkan atau mencegah kematian akibat *Clostridial Necrotic Enteritis* (CNE) dan *subclinical necrotic enteritis* (SNE). Probiotik yang dibuat (MCS) dapat melindungi ayam dengan lebih baik jika dibandingkan

dengan probiotik komersial. MCS dengan kandungan kultur bakteri (probiotik) sebesar $2,5 \times 10^{10}$ CFU, jika diberikan pada ayam umur sehari (baru menetas) akan dapat melindungi terhadap kematian akibat CNE ataupun SNE. Probiotik juga dapat memperbaiki performans ayam sehingga menghasilkan pertambahan bobot hidup yang lebih baik dibandingkan ayam yang tidak mendapatkan probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- APAJALAHTI, J. 1999. Improved bird performance by feeding its microflora. *World Poult.* 15(2): 20-23.
- AL-SHEIKHLY, F and R.B. TRUSCOTT. 1977. The interaction of *Clostridium perfringens* and its toxins in the production of necrotic enteritis of chickens. *Avian Dis.* 21: 256-263.
- BABA, E., T. IKEMOTO, T. FUKATA, K. SASAI, A. ARAKAWA and L.R. MC DOUGALD. 1997. Clostridial population and the intestinal lesions in chicken infected with *Clostridium perfringens* and *Eimeria necatrix*. *Vet. Microbiol.* 54: 301-308.
- BERKHOFF, H.A. and A.C. VINAL. 1985. Congo red medium to distinguish between invasive and non invasive *Escherichia coli* pathogenic for poultry. *Avian Dis.* 30: 117-121.
- CORRIER, D.E., D.J. NISBET, J.A. BYRD, H.B.M. HARGIS, N.K. KEITH, M. PETERSON and J.R. DE LOACH. 1998. Dosage titration of a characterized competitive exclusion culture to inhibit salmonella colonization in broiler chicken during grow out. *J. Food Protect.* 61: 796-801.
- CRAVEN, S.E., N.J. STERN, N.A. COX, J.S. BAILEY and M. BERRANG. 1999. Cecal carriage of *Clostridium perfringens* in broiler chickens given mucosal starter culture. *Avian Dis.* 43: 484-490.
- DEVRIESE, L.A., G. DAUBE, J. HOMMEZ and F. HAESBROUCK. 1993. *In vitro* susceptibility of *Clostridium perfringens* isolated from animals to growth-enhancing antibiotics. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 55-57.
- FICKEN, M.D. and D.P. WAGES. 1997. Necrotic Enteritis. In: Diseases of Poultry. B.W CALNEK (Ed.). 10th Ed. Iowa State Univ. Press. Ames, Iowa, USA.
- HADI, S. 1999. Enteritis nekrotik pada ayam broiler. *Poult. Indones.* no. 227. Maret 1999. hlm. 38.
- HOFACRE, C.L., FROYMAN, R., B. GAUTRIAS, B. GEORGE, M.A. GOODWIN and J. BROWN. 1998. Use of aviguard and other intestinal bioproducts in experimental *Clostridium perfringens*-associated necrotizing enteritis in broiler chickens. *Avian Dis.* 42: 579-584.
- INFOVET. 2003. Necrotic Enteritis bukan penyakit baru. *Infovet Edisi* 105. April 2003.
- IVANOV, I. 2004. Testing a probiotic mixture for broiler chickens. *Poult. Int.* 43: 44-47.
- KALDHUSDAL, M. and E. SKJERVE. 1996. Association between cereal contents in the diet and incidence of necrotic enteritis in broiler chickens in Norway. *Prev. Vet. Med.* 28: 1-16.
- KALDHUSDAL, M.I. 2000a. Necrotic enteritis as affected by dietary ingredients. *World Poult. Reports on Clostridial enteritis* pp. 8-9.
- KALDHUSDAL, M.I. 2000b. The economic impact of *Clostridium perfringens* is greater than anticipated. *World Poult. Reports on clostridial enteritis.* pp. 12-13.
- KALDHUSDAL, M. C. SCHNEITZ, M. HOFSHAGEN and E. SKJERVE. 2001. Reduced incidence of *Clostridium perfringens* associated lesions and improved performance in broiler chicken treated with normal intestinal bacteria from adult fowl. *Avian Dis.* 45: 149-156.
- KALDHUSDAL, M. and A. LOVLAND. 2002. Clostridial necrotic enteritis and cholangiohepatitis. The Elanco global enteritis Symposium. Indianapolis, USA, July 9-11, 2002.
- KOHLER, B. 2000. *Clostridium perfringens* intoxication affects bird performance. *World Poult. Reports on Clostridial enteritis.* pp. 57-58.
- LAWRENCE, G. 1986. Necrotizing enteritis in the fowl (*Gallus gallus domesticus*). I. Histopathology of the disease and isolation of a strain of *Clostridium welchii*. *J. Comp. Pathol.* 71: 377-393.
- MARTEL, A., L.A. DEVRIESE, K. LAUWETRS, K. DEGUSSEM, A. DECOSTERE and F. HAESBROUCK. 2003. Susceptibility of *Clostridium perfringens* strains from broiler chickens to antibiotics and anticoccidials. *Avian Pathol.* 33: 3-7.
- MORNER, A., R. FROYMAN and B. GAUTRAIS. 1999. Aviguard, A competitive exclusion product: a novel approach for increased food safety in poultry production. Proc. from Ontario Ministry of Agriculture and Food Conference, Canada.
- NATALIA, L. 1999. Laporan hasil pemeriksaan bakteri anaerob. Balai Penelitian Veteriner.
- NEWMAN, L.J. 2000. Necrotic enteritis: managing without antibiotics. Paper presented at the PIC's Poultry Health Conference on Nov 14, 2000. Sweden.
- NISBET, D.J., D.E. CORRIER, S.C. RICKE, M.E. HUME, J.A. BYRD and J.R. DE LOACH. 1996. Maintenance of the biological efficacy in chicks of a cecal competitive exclusion culture against Salmonella by continuous flow fermentation. *J. Food Protect.* 59: 1-6.
- NISBET, D.J., D.E. CORRIER and J.R. DE LOACH. 1997. Probiotic for control of salmonellae in fowl produced by continuous culture of fecal/cecal material. U.S. Patent No. 5.604.127. February 18, 1997.
- NISBET, D.J., G.I. TELLEZ, V.K. LOWRY, R.C. ANDERSON, G.GARCIA, G.NAVA, M.H. KOGURT, D.E. CORRIER and L.H. STANKER. 1998. Effect of a commercial competitive exclusion culture (Preempt) on mortality

- and horizontal transmission of *Salmonella gallinarum* in broiler chickens. *Avian Dis.* 42: 651-656.
- NORTON, R.A. 2000. Clostridium enteritis control is a delicate balancing act. *World Poult. Reports on Clostridial enteritis.* pp. 14-15.
- PAL, U.C. 1999. Probiotics benefits. *Poult. Int.* Oct 1999 : 40-44.
- PANIGRAPHY, B. and Y. LING. 1990. Differentiation of pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* isolated from poultry. *Avian Dis.* 34: 941-943.
- PRESCOTT, J. 2000. Vaccine-based control of necrotic enteritis of broiler chickens. Dept of Pathobiology Univ. of Guelph, Guelph, ON. Ministry of Agriculture and Food.Ontario.Canada. <http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/livestock/poultry/facts/necrente.htm> [19 Feb. 2003].
- SCHWARTZ, L.D. 1977. Poultry Health Handbook. 2nd Ed. College of Agriculture, The Pennsylvania State Univ. Pennsylvania.
- SETYONO, A. 1992. Hubungan Vaksinasi Koksidiioss dengan Infeksi Sekunder *Clostridium perfringens* Tipe A sebagai Penyebab *Enteritis necroticans* pada Ayam *Broiler*. Thesis. Institut Pertanian Bogor.
- SLUIS, V.D., W. 2000a. Necrotic enteritis (1) Clostridial enteritis-a syndrome emerging worldwide. *World Poult.* 16: 56-57.
- SLUIS, V. D. W. 2000b. *Clostridial enteritis* is an often underestimated problem. *World Poult. Reports on Clostridial enteritis.* pp. 10-1.
- TAKEDA, T., T. FUKATA, T. MIYAMOTO, K. SASAI, E. BABA and A. ARAKAWA. 1995. The effect of dietary lactose and rye on caecal colonization of *Clostridium perfringens* in chicks. *Avian Dis.* 39: 375-381.
- WATKINS, K.L., T. SHRYOCK, R.N. DEARTH and Y.M. SAIF. 1997. The in vitro antibiotic susceptibility of *Clostridium perfringens* from commercial turkey and broiler chicken origin. *Vet. Microbiol.* 54: 195-200.