

Gambaran Biokimia dan Leukosit Darah Ayam Kampung Umur 25 Hari yang Diberi Probiotik Fungi *Rhizopus oryzae*

(BIOCHEMICAL AND BLOOD LEUKOCYTES DESCRIPTIONS
 OF 25 DAYS AGE OF KAMPONG CHICKEN FEEDWITH FUNGI *Rhizopusoryzae*)

Isroli, Turrini Yudiarti, Sugiharto

Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Peternakan dan Pertanian,
 Universitas Diponegoro, Kampus drh. Soejono Koesoemowardojo,
 Undip Tembalang, Semarang, Jawa tengah, Indonesia 50275.
 Telp/Fax. 024-7474750; Email : isroliundip02@yahoo.com

ABSTRAK

Mikrobiota yang sering digunakan sebagai probiotik pada umumnya bakteri. Namun fungi juga berpotensi sebagai probiotik. Ayam kampung perlu ditingkatkan kesehatan dan produktivitasnya yang rendah melalui penggunaan probiotik. Sebanyak 100 ekor ayam kampung umur sehari bobot badan rata-rata 39,65±1,46 gram dibagi secara acak ke dalam 20 petak kandang panggung. Ayam diberi pakan berkadar protein kasar 20,54% energimetabolisme 2913 kkal/kg secara *ad libitum*. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan lima ulangan, dan setiap ulangan terdiri lima ekor ayam. Perlakuan berupa penambahan probiotik fungi *R. oryzae* dalam pakan T0, T1, T2, dan T3 masing-masing 0,0%, 0,2%, 0,4% dan 0,6%. Pakan yang mengandung probiotik diberikan pada hari ke 1, 7, 14 dan 21. Parameter yang diukur meliputi biokimia darah (asam urat, protein plasma total, albumin, globulin) dan leukosit (total, dan diferensial). Data dianalisis keragamannya pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian probiotik *R. oryzae* dalam pakan hanya berpengaruh nyata ($P<0,05$) pada persentase eosinofil, namun tidak berpengaruh terhadap semua parameter yang diukur. Dapat disimpulkan bahwa pemberian *R. oryzae* dalam pakan setiap tujuh hari tidak menyebabkan ayam kampung meningkatkan respon imunnya.

Kata-kata kunci: ayamkampung; *R. oryzae*; leukosit; biokimia darah

ABSTRACT

The aim of this present study was to investigate the effect of dietary supplementation of fungus probiotic *Rhizopus oryzae* on the serum biochemical and leukocytes profile of 25 days old Kampong chicken. A total of 100 day-old chicks weight 39.65 ± 1.46 g were randomly allotted into 20 plots of enclosure. All chickens received feed containing 20.54% crude protein, metabolism energi of 2913 kcal/kg *ad libitum*. A completely randomized experimental design with 4 treatments and five replicates, each replicate of 5 chicken was applied. The treatments were: supplementation of fungus probiotic *R.oryzae* in the diets (at the levels of 0% (T0), 0.2% (T1), 0.4% (T2) and 0.6% (T3), respectively. The treatment diets were given at days 1, 7, 14 and 21, respectively. Parameters measured including blood biochemistry (uric acid, total protein, albumin and globulin) and leukocyte profile (total leukocytes and its differentials). Results showed that dietary supplementation of probiotics *R. oryzae* had no effect on the parameters observed, except for the percentage of eosinophils. It can be concluded that the administration of *R. oryzae* in the ration at every seven days intervals failed to improve the physiological condition of the Kampong chickens.

Key words: Kampong chicks, *R. oryzae*, leucocyte, blood biochemistry

PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotik secara luas pada ternak dapat meningkatkan laju pertumbuhan, efisiensi pakan, dan mencegah infeksi saluran

pencernaan. Namun, dapat juga mendorong terbentuknya bakteri yang resisten antibiotik dalam saluran pencernaan serta residu antibiotik dalam daging (Khaksefidi dan Rahimi, 2005). Tantangan untuk meningkatkan

produksi khususnya pada peternakan unggas antara lain penggunaan pakan berbahan lokal dan bahan aditif yang mampu meningkatkan efisiensi penggunaan pakan dan produktivitas (Kamal dan Ragaa, 2014). Penggunaan bahan aditif diarahkan menghindari penggunaan *antibacterial growth promoters* (AGP) guna menghindari resistensi mikrob bagi konsumen. Salah satu aditif yang dipakai guna mencapai tujuan tersebut adalah probiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme (bakteri atau ragi) yang berasal dari luar tubuh yang menguntungkan bagi kesehatan induk semang (Salminen *et al.*, 1998). Namun, fungi juga dapat berpotensi sebagai probiotik antara lain *Rhizopus oryzae* sebagaimana yang dilaporkan oleh Yudiarti *et al.* (2014) pada ayam kampung. Probiotik umumnya berupa mikroorganisme nonpatogen, namun dapat juga menimbulkan infeksi (Getachew, 2016), dan dapat memengaruhi kondisi hematologi dan kima darah (Abudabos *et al.*, 2016). Kondisi hematologi dan kimia darah dapat menjadi indikator status kesehatan (Widhyari *et al.*, 2011). Berdasarkan uraian tersebut maka dilakukan penelitian yang bertujuan mengetahui pengaruh fungsi *R. oryzae* terhadap kimia dan leukosit darah untuk menduga tingkat status kesehatan tubuh ayam kampung.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Fakultas Peternakan dan Pertanian, Undip, Semarang, pada bulan September-Oktober 2015. Materi yang digunakan adalah *day old chick* (DOC) ayam kampung *unsex* sebanyak 100 ekor dengan rata-rata bobot badan awal $39,65 \pm 3,66$ g. Probiotik yang digunakan berupa fungsi *R. oryzae*. Kandang yang digunakan berupa kandang panggung dengan ukuran tiap petak 60x50 cm, sebanyak 20 petak (unit). Tinggi lantai kandang 70 cm dari tanah. Bahan pakan terdiri jagung kuning, bekatul, bungkil kedelai, tepung ikan, dan tepung kerang, disusun menjadi pakan standard sebagaimana disajikan pada Tabel 1, dan diberikan secara *ad libitum*. Fungi *R. oryzae* diisolasi dari *gathot* (ketela pohon terfermentasi secara alami), peremajaan dan perbanyakkan kultur isolat dilaksanakan menggunakan medium *potato dextrose agar* (PDA). Perlakuan berupa penambahan probiotik fungsi *R. oryzae* dalam pakan, untuk perlakuan T0, T1, T2, dan T3 masing-masing 0,0%, 0,2%,

Tabel 1. Komposisi bahan pakan dan kandungan nutrisi pakan ayam

Bahan	Jumlah
	----- (%) -----
Jagung giling	55,00
Bekatul	15,00
Bungkil kedelai	27,00
Tepung ikan	2,50
Tepung kerang	0,50
Jumlah	100,00
Kandungan nutrisi pakan :	
Energi Metabolisme (kkal/kg)	2937,20
Protein kasar (%)	20,54
Serat kasar (%)	3,85
Lemak kasar (%)	4,11
Fosfor (%)	0,53
Kalsium (%)	0,17

0,4% dan 0,6%. Pakan yang mengandung probiotik diberikan pada ayam sekali dalam seminggu pada hari ke 1, 7, 14, dan 21, pada hari lainnya diberi pakan standard.

Sampel darah diambil melalui vena *brachialis* menggunakan spuit ukuran 3 mL, setiap unit diambil satu ekor ayam secara acak pada umur 25 hari. Sampel darah ditampung dalam tabung yang sudah mengandung antikoagulan *ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA). Kadar metabolit berupa asam urat, total protein plasma (TPP), albumin (A) dan globulin (G) dianalisis menggunakan metode enzimatis kalorimetri, leukosit dihitung menggunakan metode bilik hitung *Improved Neubauer* dan differensial leukosit (eosinofil, heterofil, limfosit, dan monosit) diperoleh pada preparat ulas darah dihitung di bawah mikroskop cahaya. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari empat perlakuan dengan lima ulangan. Data yang terkumpul selanjutnya diolah secara statistika dengan analisis ragam pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kadar metabolit darah dan leukosit darah ayam kampung umur 25 hari disajikan pada Tabel 2. Parameter yang disajikan pada tabel tersebut, hanya eosinofil pada T0 dan T3 yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan T1 dan T2, sementara parameter yang lain tidak berbeda nyata.

Tabel 2. Rataan kadar beberapa metabolit dan jumlah leukosit darah ayam kampung yang diberi *R. oryzae* setiap minggu dalam pakan

No	Parameter	Perlakuan (<i>R. oryzae</i>)			
		T0 (0%)	T1 (0,2%)	T2 (0,4%)	T3 (0,6%)
1	As. Urat (mg/dL)	3,64	4,31	3,73	2,27
2	TPP (g/dL)	3,54	3,50	3,37	3,63
3	Albumin (g/dL)	1,01	1,01	1,02	0,92
4	Globulin (g/dL)	2,54	2,51	2,34	2,70
6	Rasio A/G	0,40	0,42	0,44	0,35
5	Leukosit (x10 ³ /mL)	8,80	12,08	9,54	11,28
6	Eosinofil (%)	21,00 ^b	27,40 ^a	37,60 ^a	19,40 ^b
7	Heterofil (%)	36,60	35,40	31,00	37,00
8	Limfosit (%)	38,60	33,00	27,20	37,20
9	Monosit (%)	3,60	4,20	4,20	6,40
10	Rasio heterofil/ limfosit (H/L)	0,81	0,79	0,69	0,82

Keterangan: Huruf kecil yang berbeda di belakang angka pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

Rataan kadar asam urat tidak berbeda antar perlakuan, menunjukkan bahwa *R. oryzae* kurang berperan dalam metabolisme protein, karena fungi tersebut lebih banyak mendegradasi serat kasar. Pada penelitian sebelumnya, fermentasi menggunakan *A. charticola*, *R. oryzae*, atau *A. charticola* + *R. oryzae* terbukti dapat menurunkan kadar serat kasar pada onggok (Sugiharto *et al.* (2016). Unggas berbeda dengan mamalia karena pada mamalia indikator metabolisme protein dapat dilihat dari kadar urea dalam darah, sedangkan pada unggas produk akhir utama metabolisme protein berupa asam urat (Golstein dan Skadhauge, 2000), karena unggas tidak mampu menghasilkan arginase, enzim yang berperan dalam siklus urea. Hasil penelitian ini berbeda dengan Hasan *et al.* (2015), bahwa probiotik mampu meningkatkan asam urat pada *broiler*. Hal ini karena perbedaan jenis mikrob yang

digunakan. Pada ayam *broiler* tersebut digunakan bakteri sebagai probiotik. Dilihat dari kisarannya, asam urat pada penelitian ini (2,27-4,32 mg/dL) termasuk rendah dibandingkan laporan El-Katcha *et al.* (2014) (Tabel 3). Rendahnya kadar asam urat ini berarti asam amino yang dikonsumsi lebih banyak digunakan untuk menyusun jaringan dan tidak banyak mengalami deaminasi yang menghasilkan produk akhir asam urat.

Parameter metabolit protein (protein plasma total, albumin dan globulin) juga tidak dipengaruhi oleh perlakuan. Ketiga parameter tersebut saling ada keterkaitan. Peningkatan atau penurunan TPP dalam darah dipengaruhi oleh konsentrasi albumin atau globulin atau keduanya. Peningkatan atau penurunan konsentrasi protein total merupakan suatu abnormalitas. Rasio A/G dapat memberikan gambaran imbalanced komposisi antara albumin

Tabel 3. Kisaran parameter biokimia dan leukosit darah ayam dari beberapa sumber

Parameter					Sumber
TPP (g/dL)	Albumin (g/dL)	Globulin (g/dL)	Asam Urat (mg/dL)	Leukosit (x10 ³ /mL)	
2,25-3,00	1,00-1,18	1,25-2,65	-	10,91-11,37	Al-Daraji dan Salih (2012)
4,45-5,60	3,05-3,95	0,85-3,95	4,87-6,57	-	El-Katcha <i>et al.</i> (2014)
2,57-2,96	1,13-1,94	0,72-1,59	-	-	Abudabos <i>et al.</i> (2016)
2,87-4,18	0,92-1,51	1,83-2,46	-	12,1-29,4	Sugiharto <i>et al.</i> (2016)

dan globulin. Beberapa jenis globulin mengikat hemoglobin, beberapa lainnya mengikat zat besi, berfungsi untuk melawan infeksi, dan bertindak sebagai faktor koagulasi. Semakin rendah rasio A/G semakin baik daya tahan seekor ternak (Irfan *et al.*, 2014). Namun, hasil penelitian pada ayam kampung ini menunjukkan tidak ada pengaruh probiotik terhadap rasio A/G yang berarti probiotik *R.oryzae* tidak bersifat patogen bagi ayam sehingga tidak menyebabkan peningkatan globulin yang berarti tidak merangsang respons imun pada ayam.

Rataan parameter biokimia TPP, albumin, globulin dan leukosit ayam kampung pada penelitian ini dalam kisaran normal dan setara dengan beberapa penelitian lain seperti Al-Daraji dan Salih (2012), El-Katcha *et al.* (2014), dan Abudabos *et al.* (2016).

Rataan jumlah leukosit dan persentase diferensial leukosit disajikan pada Tabel 2, yang berbeda nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan hanya persentase eosinofil. Pada perlakuan T3 (0,6% *R.oryzae*) persentase eosinofil sama dengan kontrol namun lebih rendah dibanding pada perlakuan T1 (0,2% *R.oryzae*) dan T2 (0,4% *R.oryzae*). Namun demikian, pada jumlah leukosit dan persentase limfosit ada kecenderungan berbeda, yakni pada perlakuan T2 (0,4% *R.oryzae*) cenderung lebih rendah sedangkan pada T3 (0,6% *R.oryzae*) cenderung meningkat. Persentase eosinofil pada T1 (0,2% *R.oryzae*) dan T2 (0,4% *R.oryzae*) tinggi, dan pada T3 (0,6% *R.oryzae*) rendah, berlawanan dengan rasio A/G pada T2 cenderung rendah dan limfosit pada T3 cenderung tinggi. Eosinofil berperan aktif dalam pengaturan alergi akut, investasi parasit, memfagosit bakteri, antigen-antibodi kompleks, mikoplasma dan ragi. Fungsi utama limfosit memproduksi antibodi sebagai respons terhadap benda asing. Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa *R.oryzae* bukan menjadi rangsangan bagi ayam untuk meningkatkan leukosit dan diferensial leukosit, serta menjadi indikasi bahwa ayam dalam kondisi sehat sehingga tidak perlu memfagosit sumber penyakit, namun cenderung membentuk (menyiapkan) antibodi.

SIMPULAN

Berdasar uraian di atas disimpulkan bahwa tidak ada perubahan parameter biokimia dan leukosit darah kecuali persentase eosinofil,

sehingga pemberian aditif *R.oryzae* dalam pakan setiap tujuh hari tidak menyebabkan ayam kampung memberi respons imun.

SARAN

Fungi R.oryzae dapat diberikan pada ayam kampung, dan pada penelitian lanjutan perlu dilakukan pengamatan performans dan parameter lainnya untuk mengetahui nilai tambah dari pemberian *R.oryzae* tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dirjen Dikti atas bantuan dana hibah bersaing tahun 2015, sehingga penelitian ini dapat berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Abudabos AM, Murshed MA, Qaid MM, Abdelrahman AG. 2016. Effect of probiotics on serum biochemical and blood constituents in chicken challenged with *Salmonella enterica* Subsp typhimurium. *Trop J Pharm Res* 15(3): 46-467.
- Al-Daraji HJ, Salih AM. 2012. Influence of feeding diets containing different levels of L-arginine on blood plasma characteristics of broilers. *Res Opin Anim Vet Sci* 2(1): 44-48.
- El-Katcha MI, Soltan MA, El-Kaney HF, Karwarie El-Sayed R. 2014. Growth performance, blood parameters, immune response and carcass traits of broiler chicks fed on graded levels of wheat instead of corn without or with enzyme supplementation. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences* 40: 95-111.
- Getachew T. 2016. A Review on effects of probiotic supplementation in poultry performance and cholesterol levels of egg and meat. *J World Poult Res* 6(1): 31-36.
- Golstein D, Skadhauge E. 2000. Renal and Excretion Regulation of Body Fluid Composition. dalam : Wittow, G.C. (Ed). *Sturkie's Avian Physiology*. 5th Ed. Academic Press, San Diego. Hlm. 265-297

- Hasan S, Hossain MM, Alam J, Bhuiyan MER. 2015. beneficial effects of probiotic on growth performance and hemato-biochemical parameters in broilers during heat stress. *International Journal of Innovation and Applied Studies* 10(1): 244-249.
- Irfan IZ, Esfandiari A, Choliq C. 2014. Profil protein total, albumin, globulin dan rasio albumin globulin sapi pejantan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 19(2): 123-129.
- Kamal AM, Ragaa NM. 2014. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance and serum biochemistry of broiler chicken. *Nature and Science* 12(2): 38-45.
- Khaksefidi A, Rahimi SH. 2005. Effect of Probiotic inclusion in the diet of broiler Chickens on performance, feed efficiency and carcass quality. *Asian Aust J Anim Sci* 18(8): 1153-1156.
- Salminen S, Von Wright A, Morelli L, Martean P, Brassart D, de Vos WM, Fonden R, Matills-Sandholm T. 1998. Demonstration of safety of probiotic-A Review. *Intl J Food Microbiol* 44: 93-106.
- Sugiharto S, Yudiarti T, Isroli I. 2016. Haematological and biochemical parameters of broilers fed cassava pulp fermented with filamentous fungi isolated from the Indonesian fermented dried cassava. *Livestock Research for Rural Development* 28 (4) article #53.
- Widhyari SD, Esfandiari A, Herlina. 2011. Profil protein total, albumin dan globulin pada ayambroiler yang diberi kunyit, bawang putih dan Zinc (Zn). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 16(3): 179-184
- Yudiarti T, Ismadi VDYB, Isroli. 2014. Preparation of dried culture of probiotic *Rhizopus oryzae* in two different mediums as feed additive to indigenous chicken. *Journal of Agricultural Science and Technology A* 4: 874-879.