

## Pemanfaatan Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) sebagai Agensia Anti-Pullorum dalam Imbuhan Pakan Ayam Broiler

EMA DAMAYANTI<sup>1</sup>, AHMAD SOFYAN<sup>1</sup>, HARDI JULENDRA<sup>1</sup> dan TRI UNTARI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Pengembangan Proses dan Teknologi Kimia (BPPTK) - LIPI  
Jl. Jogja - Wonosari Km. 31, Gading, Playen, Gunungkidul, Yogyakarta, 55861  
E-mail: ema.damayanti@lipi.go.id

<sup>2</sup>Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

(Diterima dewan redaksi 14 Maret 2009)

### ABSTRACT

DAMAYANTI, E., A. SOFYAN, H. JULENDRA and T. UNTARI. 2009. The use of earthworm meal (*Lumbricus rubellus*) as anti-pullorum agent in feed additive of broiler chicken. *JITV* 14(2): 83-89.

The aim of this research was to study the use of earthworm meal (TCT) *L. rubellus* as anti pullorum agent in poultry feed additive (IP). The antibacterial activity of TCT against *Salmonella pullorum* was examined using diffusion agar method at each of the following concentrations: 0, 25, 50, 75 and 100% (w/v) in 100 µL DMSO. In vivo test was conducted using 80 broiler chicken and were infected by *S. pullorum* with treatments of: IP0: IP contained 0% TCT, IP1: IP contained 25% TCT, IP2: IP contained 50% TCT, IP3: IP contained 75% TCT and IP4: IP contained 100% TCT. Each treatment was replicated 4 times with 4 chicks each. Feed additive was periodically fed to broiler during 7 days before and 10 days after infection. Anti-pullorum activities were evaluated using serology test, isolation and biochemical identification of *S. pullorum*. The results showed that 75% TCT was optimum to inhibit *S. pullorum* in vitro. The isolation and identification of *S. pullorum* results showed that 0 out of 8 (0%) broilers treated with IP4 was not infected by *S. pullorum* whereas 1 out of 2 (50%) broilers treated with IP0 were infected by *S. pullorum*. The reduction of *S. pullorum* prevalence as followed by increasing TCT in feed additive. In conclusion, TCT as poultry feed additive could inhibit *S. pullorum* infection.

**Key words:** Earthworm Meal, Feed Additive, *S. Pullorum*

### ABSTRAK

DAMAYANTI, E., A. SOFYAN, H. JULENDRA dan T. UNTARI. 2009. Pemanfaatan tepung cacing tanah *Lumbricus rubellus* sebagai agensia anti-pullorum dalam imbuhan pakan ayam broiler. *JITV* 14(2): 83-89.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemanfaatan tepung cacing tanah (TCT) *L. rubellus* sebagai agensia anti-pullorum dalam imbuhan pakan (IP) unggas. Aktifitas antibakteri TCT secara *in vitro* terhadap *Salmonella pullorum* diuji dengan menggunakan metode difusi agar pada taraf: 0, 25, 50, 75 dan 100% (b/v) dalam 100µL DMSO, sedangkan uji *in vivo* TCT dalam imbuhan pakan dilakukan pada 80 ekor ayam broiler yang diinfeksi bakteri *S. pullorum* dalam suatu rancangan yang terdiri atas 5 perlakuan dan 4 ulangan, masing-masing ulangan berisi 4 ekor. Perlakuan yang dicobakan yaitu IP0: IP mengandung 0% TCT, IP1: IP mengandung 25% TCT dan IP2: IP mengandung 50%TCT, IP3: IP mengandung 75% TCT, IP4: IP mengandung 100% TCT. Pemberian imbuhan pakan secara periodik (setiap 3 hari) dilakukan selama 7 hari sebelum infeksi hingga 10 hari setelah infeksi dengan *S. pullorum*. Kemampuan TCT sebagai anti-pullorum diuji secara serologis yang dilanjutkan dengan isolasi dan identifikasi *S. pullorum* secara biokimia. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa secara *in vitro* taraf 75% TCT optimum menghambat *S. pullorum*. Hasil isolasi dan identifikasi, menunjukkan bahwa pada ayam yang diberi perlakuan IP4 tidak ditemukan (0%) ayam yang terinfeksi *S. pullorum* sedangkan pada perlakuan IP0 ada 50% ayam yang terinfeksi *S. pullorum*. Prevalensi *S. pullorum* juga menunjukkan pola penurunan sebanding dengan peningkatan penggunaan TCT dalam imbuhan pakan. Disimpulkan bahwa penggunaan TCT dalam imbuhan pakan unggas dapat mencegah terjadinya infeksi bakteri *S. pullorum*.

**Kata kunci:** Tepung Cacing Tanah, Imbuhan Pakan, *S. pullorum*

### PENDAHULUAN

Penyakit pullorum merupakan penyakit unggas yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Salmonella pullorum*. Penyakit pullorum dapat menyebabkan kematian jika menyerang unggas muda pada umur 3 minggu atau

kurang dengan tingkat mortalitas antara 20–80% (PORTER, 1998; PURNOMO, 2004). *S. pullorum* adalah bakteri Gram negatif yang dapat menekan sistem kekebalan tubuh unggas (*immuno-suppression*) dan dapat menyebabkan kematian ayam pedaging sampai 80-100% (SHIVAPRASAD, 2003; MCMULLIN, 2004).

Gejala klinis infeksi *S. pullorum* pada unggas ditandai dengan adanya ekskreta yang bewarna putih (berak kapur), dehidrasi dan unggas terlihat lemas. Penyakit ini juga sangat merugikan peternak ayam petelur karena dapat menyebabkan penurunan produksi telur dan kematian. Telur yang dihasilkan dapat terkontaminasi dan menjadi media transmisi bagi bakteri patogen ini (PORTER, 1998; SHIVAPRASAD, 2000).

Pemberian antibiotik untuk mengatasi infeksi bakteri patogen mulai dihindari karena efek negatif yang ditimbulkan. Penggunaan antibiotik pada pakan terbukti dapat menyebabkan resistensi bakteri patogen (KHACHATRYAN *et al.*, 2006) dan berpeluang terjadinya transmisi materi bakteri patogen dari unggas ke manusia (VAN DEN BOGAARD *et al.*, 2001). Pada abad 21 ini, isu keamanan daging dan unggas menjadi perhatian masyarakat, khususnya yang terkait dengan cara penanganan mikroba patogen yang memungkinkan terjadinya meningkatnya virulensi dan menurunnya dosis infeksi akibat penggunaan antibiotik (SOFOS, 2008).

Penggunaan imbuhan pakan dari bahan alami merupakan cara alternatif untuk mencegah penyakit dan meningkatkan performa ternak. Tepung cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) merupakan salah satu bahan alami yang berpotensi untuk dijadikan imbuhan pakan. Beberapa jenis cacing tanah telah dilaporkan mempunyai senyawa bioaktif dan terbukti dapat menghambat bakteri patogen. Zat-zat aktif itu antara lain berupa gliko-lipoprotein G-90 dan fetidin dari cacing *Eisenia foetida* (Annelida, Lumbricidae) (LIU *et al.*, 2004; POPOVIC *et al.*, 2005), lysozyme dari *E. foetida andrei* (SALZET *et al.*, 2006), hestidin dari cacing *Nereis diversicolor* (TASIEWSKI *et al.*, 2006) dan cacing tanah *Dendrobaena veneta* (KALAC *et al.*, 2002).

Selain memiliki daya hambat terhadap bakteri patogen, tepung cacing tanah *L. rubellus* juga banyak mengandung protein, yaitu 65,63% dari bahan kering (BK) (DAMAYANTI *et al.*, 2008) dan mengandung asam amino prolin sekitar 15% dari 62 asam amino (CHO *et al.*, 1998). Penggunaan tepung cacing tanah sebagai imbuhan pakan diharapkan dapat menghambat penyakit akibat infeksi bakteri patogen khususnya *S. pullorum* yang merupakan penyebab penyakit pullorum pada unggas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan tepung cacing tanah *L. rubellus* sebagai imbuhan pakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. pullorum* pada ayam broiler.

## MATERI DAN METODE

Penelitian tentang pemanfaatan tepung cacing tanah (TCT) (*L. rubellus*) sebagai agensia anti-pullorum dalam imbuhan pakan dilakukan uji *in vivo* pada ayam broiler di Fakultas Kedokteran Hewan (FKH)

Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta pada bulan Desember 2007 - Januari 2008. Uji pendahuluan secara *in vitro* untuk mengetahui daya hambat TCT terhadap bakteri patogen *S. pullorum* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Balai Pengembangan Proses dan Teknologi Kimia (BPPTK) - LIPI Yogyakarta pada bulan Oktober - Nopember 2007.

### Pembuatan tepung cacing tanah (TCT)

Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) yang digunakan dalam penelitian ini berumur  $\pm$  3 bulan, diperoleh dari peternak cacing di Yogyakarta. Tepung cacing tanah dibuat dengan metode yang dimodifikasi dari EDWARDS (1985) dan MIHARA *et al.* (1991). Cacing tanah dibersihkan dari media tumbuhnya dan kotoran lain yang menempel, kemudian dicuci dengan air mengalir. Cacing yang telah bersih disimpan dalam lemari pendingin pada suhu  $\pm$  4°C selama  $\pm$  12 jam. Selanjutnya cacing tanah dicampur dengan larutan asam format (80%) sebanyak 3 ml per 100 g bobot cacing dan dihaluskan hingga menjadi pasta. Pasta kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50 - 70°C selama 4-6 jam. Setelah kering digiling dengan ukuran partikel  $\pm$  40 mesh kemudian diambil sampelnya.

### Uji aktivitas antibakteri

Isolat bakteri *S. pullorum* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan UGM, Yogyakarta. Aktivitas antibakteri TCT dilakukan terhadap *S. pullorum* dengan metode difusi agar (*agar well*) dengan parameter diameter zona hambat (SCHLEGEL dan SCHMIDT, 1994). Taraf TCT yang diuji cobakan adalah 0, 25, 50, 75, dan 100% (b/v) yang dipersiapkan secara berturut-turut dengan 0, 25, 50, 75 dan 100 mg TCT dalam 100  $\mu$ L *dimethylsulfoxide* (DMSO). Setiap perlakuan dilakukan ulangan sebanyak 2 kali. Inokulum *S. pullorum* dalam media *Nutrient Broth* (NB) berumur 1 x 24 jam (jumlah sel  $10^7$  -  $10^8$  cfu/ml) sebanyak 200  $\mu$ L diinokulasikan ke dalam cawan yang berisi 30 ml media *Nutrient Agar* (NA) yang masih cair. Setelah NA memadat, dibuat sumuran menggunakan bor gabus steril berdiameter 9 mm, kemudian dimasukkan TCT sampel ke dalam sumuran. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Aktivitas antibakteri TCT terhadap *S. pullorum* diketahui dari zona jernih yang terbentuk di sekitar sumuran yang diukur pada jam ke 24 dan 48 setelah inkubasi menggunakan jangka sorong. Nilai diameter zona hambat TCT (mm) diperoleh dari nilai diameter zona jernih yang terbentuk (mm) dikurangi diameter sumuran (mm).

### Uji coba pakan ke ayam

Penelitian menggunakan 80 ekor ayam Broiler strain *Cobb* umur 14 hari, dibagi dalam 5 kelompok percobaan yaitu:

- IP0 = Imbuhan pakan mengandung 0% TCT (kontrol)
- IP1 = Imbuhan pakan mengandung 25% TCT
- IP2 = Imbuhan pakan mengandung 50% TCT
- IP3 = Imbuhan pakan mengandung 75% TCT
- IP4 = Imbuhan pakan mengandung 100% TCT

Masing-masing kelompok percobaan dibagi menjadi 4 ulangan yang masing-masing berisi 4 ekor. Ayam dipelihara dari umur 1 hari (DOC) sampai umur 35 hari dan diberi perlakuan mulai umur 14 hari. Infeksi *S. pullorum* terhadap ayam broiler dilakukan dengan metode peroral dosis infeksi  $10^8$  cfu/ml/ekor.

Imbuhan pakan yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dengan formula yang terdiri atas tepung cacing tanah (TCT) dan bahan pengisi (*filler*). Formula imbuhan pakan dibuat dengan kandungan TCT yang berbeda yaitu 0, 25, 50, 75 dan 100% (b/v). Komposisi nutrisi imbuhan pakan pada berbagai perlakuan 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 7 hari sebelum infeksi hingga 10 hari setelah infeksi dengan interval waktu pemberian 3 hari.

### Uji serologis

Uji serologis anti-pullorum menggunakan metode uji penggumpalan secara cepat (*rapid whole blood plate agglutination test*) dengan parameter terjadinya penggumpalan atau tidak (GAST, 1997). Uji serologis dilakukan dalam 3 tahapan, yaitu 1) 1 minggu sebelum infeksi *S. pullorum*, 2) 1 minggu setelah infeksi dan 3) 2 minggu setelah infeksi.

**Tabel 1.** Komposisi nutrisi (%) imbuhan pakan pada berbagai perlakuan

Parameter	IP0	IP1	IP2	IP3	IP4
	..... % BK .....				
Bahan kering	92,63	89,61	89,94	88,54	88,57
Kadar abu	12,18	13,44	8,39	6,46	5,81
Protein	20,66	26,05	38,39	48,39	63,06
Lemak	4,98	11,15	11,38	15,01	18,49
Serat kasar	12,21	3,28	7,09	3,52	0,19

- IP0: imbuhan pakan mengandung 0% TCT
- IP1: imbuhan pakan mengandung 25% TCT
- IP2: imbuhan pakan mengandung 50% TCT
- IP3: imbuhan pakan mengandung 75% TCT
- IP4: imbuhan pakan mengandung 100% TCT

### Isolasi dan identifikasi *S. pullorum*

Isolasi dan identifikasi *S. pullorum* secara biokimia mengacu pada metode dalam SEELEY *et al.* (2001). Isolasi dilakukan dengan cara *swab* dari bagian kloaka ayam menggunakan *cotton bud* steril, kemudian sampel langsung diinokulasikan ke dalam media cair kaldu selenit (*selenite cycteine broth*) dan dilanjutkan dengan *plating* pada media selektif *brilliant green agar* (BGA). Inkubasi dilakukan selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C. Koloni yang diduga *Salmonella* adalah berwarna merah, kemudian dimurnikan lagi dalam media *salmonella shigela* (SS) Agar. Biakan yang sudah murni selanjutnya diuji secara biokimia yang terdiri dari uji *triple sugar iron* (TSI) (tegak dan miring), pepton, *voges-proskauer* (VP), *methyl red* (MR), citrate, urease, glukosa, sukrosa, laktosa. Sampel yang positif ditemukan *S. pullorum* dihitung dan dibandingkan dengan jumlah sampel.

### Analisis Data

Data diameter zona hambat TCT terhadap *S. pullorum* dari uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* dan data hasil uji serologis dianalisis secara deskriptif, sedangkan data yang diperoleh dari isolasi dan identifikasi *S. pullorum* dianalisis regresi linier sederhana untuk menghitung prevalensi *S. pullorum* pada tiap perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas Antibakteri

Hasil uji *in-vitro* menunjukkan bahwa tepung cacing tanah (TCT) dari *L. rubellus* menghambat pertumbuhan bakteri *S. pullorum* berdasarkan zona hambat yang terbentuk selama 2 x 24 jam pengamatan (Tabel 2).

**Tabel 2.** Rataan diameter zona hambat tepung cacing tanah terhadap *S. pullorum* (mm)

Waktu pengamatan	Taraf TCT (Perlakuan)				
	IP0	IP1	IP2	IP3	IP4
24 jam	0,00	1,40	5,50	13,00	6,65
48 jam	0,65	0,80	5,60	12,80	3,63
Rata-rata	0,32	1,10	5,55	12,90	5,14

Tepung cacing tanah (TCT) pada taraf 25% telah memberikan efek penghambatan terhadap *S. pullorum* dan cenderung meningkat sebanding peningkatan konsentrasi hingga taraf TCT 75%. Diameter zona hambat tertinggi didapatkan pada taraf TCT 75%, diikuti taraf TCT 50, 25, 100 dan 0% yaitu 12,90; 5,55; 5,14; 1,10 dan 0,32 mm.

Dari tingkat kandungan 0 – 75% TCT, makin tinggi persentase TCT, makin tinggi daya hambatnya, setelah itu menurun pada tingkat 100%. Daya hambat optimum terhadap pertumbuhan *S. pullorum* adalah taraf 75%. Berdasarkan analisis regresi dapat diketahui, TCT pada taraf 75% optimum menghambat pertumbuhan (Gambar 1). JULENDRA dan SOFYAN (2007) juga melaporkan bahwa TCT *L. rubellus* pada taraf 75% optimum menghambat *S. pullorum* dan pada taraf 50% optimum menghambat *Escherichia coli*. CHO *et al.* (1998) melaporkan bahwa dalam 1 gram cacing tanah *L. rubellus* terdapat 1 µg senyawa bioaktif Lumbricin I. Dengan demikian, pada taraf TCT yang lebih tinggi akan mengandung lebih banyak senyawa bioaktif Lumbricin I. HANDAYANI (2007) juga melaporkan bahwa ekstrak cacing tanah yang diperoleh dengan cara merebus dalam air pada taraf 0, 20, 40, 60, 80 dan 100% mempunyai daya hambat terhadap *S. thypi* yang besarnya sebanding dengan peningkatan konsentrasi ekstrak cacing.

Pada penelitian ini, TCT pada taraf 100% cenderung mengalami penurunan daya hambat. Hal ini disebabkan pada taraf 100%, TCT yang terlarut dalam DMSO (pelarut polar) cenderung lebih pekat dan diduga sulit masuk ke dalam sel sehingga daya hambatnya menurun. PELCZAR dan CHAN (1986) menyebutkan bahwa masuknya zat-zat ke dalam sel melalui membran sel dibantu oleh adanya pelarut.

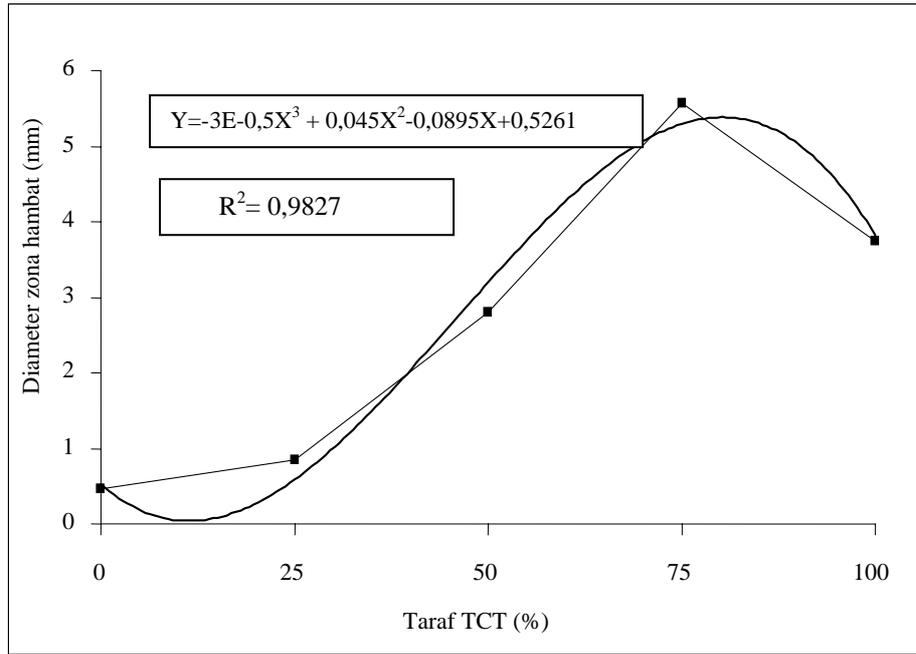
Aktivitas antibakteri yang dimiliki TCT *L. rubellus* berasal dari Lumbricin I yang merupakan senyawa antibakteri yang berhasil diisolasi dan dikarakterisasi dari cacing tanah *L. rubellus* (CHO *et al.*, 1998; SALZET *et al.*, 2006). CHO *et al.* (1998) menyatakan bahwa hasil uji *in vitro* menunjukkan Lumbricin I mempunyai aktivitas antimikroba berspektrum luas, yaitu menghambat bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif dan fungi. Mekanisme penghambatan Lumbricin I

terhadap mikroba sampai saat ini belum diketahui secara pasti. Beberapa jenis peptida antimikroba yang sejenis dengan Lumbricin antara lain *apidaecins*, *bactenecins* dan antimikroba 'PR-39'. Mekanisme penghambatan *bactenecins* terhadap bakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sehingga kehilangan metabolit sel dan PR-39 diketahui mampu menghambat sintesis protein dan DNA dalam sel.

#### Uji serologis

Hasil dari 3 kali uji serologis dari serum darah ayam broiler yang diinfeksi *S. pullorum* negatif (Tabel 3), yang mengindikasikan bahwa ayam broiler yang digunakan pada penelitian ini bebas dari *S. pullorum* sebelum diinfeksi.

Pemberian pakan yang mengandung TCT dilakukan 7 hari sebelum infeksi hingga 10 hari setelah infeksi. Hasil uji serologis yang negatif pada semua ayam perlakuan yang diinfeksi dengan *S. pullorum* baik yang diberi imbuhan pakan mengandung TCT maupun yang tidak mengandung TCT, belum tentu menunjukkan bahwa TCT tidak berpengaruh terhadap infeksi *S. pullorum*. Hal ini dapat disebabkan oleh waktu pengambilan sampel yang belum cukup untuk terbentuknya antibodi pada ayam pasca infeksi. Hasil penelitian GAST (1997) menunjukkan bahwa uji serologis terhadap ayam yang diinfeksi *S. pullorum* menghasilkan persentase sampel ayam positif yang mempunyai antibodi lebih tinggi terjadi pada pengambilan sampel minggu ke 5–6 pasca infeksi dibandingkan pengambilan sampel pada minggu ke 1–2 pasca infeksi. Hal ini menunjukkan bahwa penentuan waktu pengambilan sampel pasca infeksi menjadi faktor yang penting. GAST (1997) juga melaporkan bahwa frekuensi terdeteksinya serum antibodi *S. pullorum* akan lebih tinggi jika menggunakan *tube tests* daripada *plate tests* dan ada korelasi antara hasil uji antibodi serologi dengan isolasi *S. pullorum* dari organ internal. Dengan demikian untuk mengetahui pengaruh pemberian TCT terhadap infeksi *S. pullorum* secara *in vivo* dilakukan uji lanjutan dengan cara melakukan isolasi dan identifikasi *S. pullorum* dari sampel ayam percobaan.



**Gambar 1.** Pola hubungan taraf penggunaan TCT terhadap penghambatan *S. pullorum* secara *in vitro*

**Tabel 3.** Hasil uji serologis ayam broiler yang diinfeksi *S. pullorum*

Perlakuan	Jumlah ayam (ekor)	Jumlah sampel (ekor)	Hasil uji serologis (ekor)		
			1 minggu sebelum infeksi	1 minggu setelah infeksi	2 minggu setelah infeksi
IP0	10	3	-	-	-
IP1	16	8	-	-	-
IP2	16	8	-	-	-
IP3	16	8	-	-	-
IP4	16	8	-	-	-

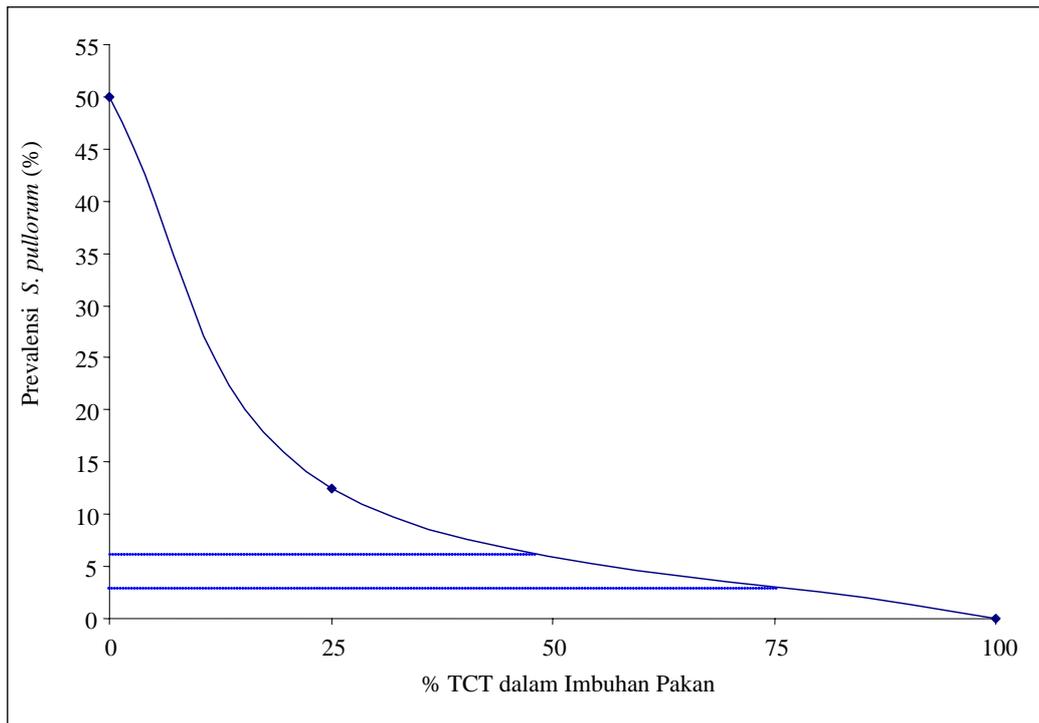
### Isolasi dan identifikasi *S. pullorum*

Isolasi dan identifikasi *S. pullorum* dilakukan dari sampel kloaka ayam menggunakan metode *swab*. Isolat murni yang diduga *Salmonella* dari media selektif selanjutnya dikonfirmasi dengan uji biokimia (Tabel 4). Hasil uji biokimia dengan media TSI tegak didapatkan reaksi berwarna kuning sedangkan pada media TSI miring berwarna merah. Hal ini menunjukkan isolat yang didapat tersebut hanya memfermentasi glukosa dalam media TSI. Reaksi positif dalam uji MR, sitrat dan glukosa menunjukkan bahwa isolat tersebut mampu memetabolisme sumber karbon sitrat, memfermentasi campuran asam, butanediol dan glukosa, sesuai dengan karakteristik biokimia bakteri Gram negatif *S. pullorum* (SEELEY *et al.*, 2001).

**Tabel 4.** Hasil uji biokimia isolat *S. pullorum* yang diisolasi dari ayam broiler

Uji	Reaksi
Triple sugar iron (TSI) tegak	kuning, terbentuk gas (+)
Triple sugar iron (TSI) miring	Merah (+)
Pepton	-
Voges-proskauer (VP)	-
Methyl red (MR)	+
Sitrat	+
Urea	-
Glukosa	+
Sukrosa	-
Laktosa	-

(+) : terjadi reaksi, (-): tidak terjadi reaksi



**Gambar 2.** Prevalensi *S. pullorum* pada ayam broiler yang diberi imbuan pakan mengandung TCT

Pada perlakuan IP0 (imbuan pakan mengandung 0% TCT) dari 2 sampel ayam ditemukan 1 positif *S. pullorum*, pada perlakuan IP1 (imbuan pakan mengandung 25% TCT) dari 8 sampel ayam ditemukan 1 positif terinfeksi *S. pullorum*, sedangkan pada perlakuan IP4 (imbuan pakan mengandung 100% TCT) dari 8 sampel ayam semua negatif *S. pullorum*. Hasil analisis regresi menunjukkan, prevalensi *S. pullorum* dari sampel ayam broiler pada perlakuan IP0, IP1, IP2, IP3 dan IP4 berturut-turut adalah 50; 12,5; 6, 3 dan 0%. Peningkatan taraf TCT dalam imbuan pakan sebanding dengan penurunan prevalensi *S. pullorum* dari sampel ayam broiler (Gambar 2.). Berdasarkan hal tersebut, pemberian TCT memiliki respon positif terhadap penurunan jumlah ayam yang positif terinfeksi *S. pullorum*.

Mekanisme TCT *L. rubellus* dalam menghambat infeksi bakteri *S. pullorum* diduga karena terjadinya peningkatan kekebalan pada tubuh ayam. Indikator peningkatan kekebalan (*immunity*) adalah persentase jumlah ayam yang positif terinfeksi *S. pullorum*. Kemampuan TCT dalam meningkatkan imunitas terhadap *pullorum* juga sesuai dengan laporan LIU *et al.* (2004) bahwa cacing tanah *L. rubellus* dapat menstimulasi sistem kekebalan. SALZET *et al.* (2006) menyatakan bahwa secara alamiah cacing tanah *L. rubellus* yang termasuk golongan Annelida mempunyai

kekebalan alami yang berperan utama sebagai pertahanan pertama terhadap mikroba yang salah satunya berasal dari peptida atau protein yang bersifat antimikroba. Annelida mengembangkan sistem kekebalan seluler terhadap patogen meliputi fagositosis, enkapsulasi dan sitotoksitas, dan kekebalan humoral berdasarkan sifat antimikroba, hemolitik dan pembekuan dari cairan tubuhnya.

## KESIMPULAN

Tepung cacing tanah *Lumbricus rubellus* secara *in vitro* dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella pullorum*. Taraf tepung cacing tanah yang optimum dalam menghambat *S. pullorum* adalah 75% (b/v) dalam 100 µL DMSO. Penggunaan tepung cacing tanah sebanyak 25 – 100% (b/v) dalam imbuan pakan dapat menghambat infeksi *S. pullorum* sehingga diharapkan akan mengurangi resiko munculnya penyakit pullorum pada ayam broiler.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Drh. M. Haryadi Wibowo, M.P. (Fakultas Kedokteran

Hewan UGM) yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- CHO, J.H., C.B. PARK, Y.G. YOON and 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., H. JULENDRA dan A. SOFYAN. 2008. Aktivitas antibakteri tepung cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) dengan metode pembuatan yang berbeda terhadap *Escherichia coli*. Prosiding Seminar Nasional Pangan. Yogyakarta, 17 Januari 2008. Yogyakarta. hlm. 54–60.
- EDWARDS, C.A. 1985. Production of feed protein from animal waste by earthworms. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 310: 299–307.
- GAST, R.K. 1997. Detecting infections of chickens with recent *Salmonella pullorum* isolates using standard serological methods. *Poult. Sci.* 76: 17-23.
- HANDAYANI, L. 2007. Pengaruh Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* dengan Metode Sumuran. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- JULENDRA, H. dan A. SOFYAN. 2007. Uji *in-vitro* penghambatan aktivitas *Escherichia coli* dengan tepung cacing tanah (*Lumbricus rubellus*). *Med. Petern.* 30: 41-47.
- KALAC, Y., A. KIMIRAN, G. ULAKOGLU and A. COTUK. 2002. The role of opsonin in phagocytosis by coelomocytes of earthworm *Dendrobaena veneta*. *J. Cell Mol. Biol.* 1: 7–14.
- KHACHATRYAN, A.R., T.E. BESSER, D.D. HANCOCK and D.R. CALL. 2006. Use of a nonmedicated dietary supplement correlates with increased prevalence of streptomycin-sulfa-tetracycline-resistant *Escherichia coli* on a dairy farm. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 4583-4588.
- LIU, Y-Q., Z-J. SUN, C. WANG, S-J. LI and Y-Z. LIU. 2004. Purification of a novel antibacterial short peptide in earthworm *Eisenia foetida*. *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 36: 297–302.
- MCMULLIN, P. 2004. A Pocket Guide to Poultry Health and Disease. 5M Enterprises Limited. Sheffield.
- MIHARA, H., H. SUMI, T. YONETA, H. MIZUMOTO, R. IKEDA, M. SEIKI and M. MARUYAMA. 1991. A novel fibrinolytic enzyme extracted from the earthworm, *Lumbricus rubellus*. *Japan J. Physiol.* 41: 461–472.
- PELCZAR, M.J. dan E.C.S. CHAN. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi I. Hadioetomo, R.S., T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L. Angka (Penerjemah). Universitas Indonesia (UI) Press, Jakarta.
- POPOVIC, M., M. GRDISA and T.M. HRZENJAK. 2005. Glycolipoprotein G-90 obtained from the earthworm *Eisenia foetida* exerts antibacterial activity. *Veterinarski Arhiv.* 75: 119–128.
- PORTER, R.E. 1998. Bacterial enteritides of poultry. *Poult. Sci.* 77: 1159-1165.
- PURNOMO, J.S. 2004. Variasi tipe antigen *Salmonella pullorum* yang ditemukan di Indonesia dan penyebaran serotipe *Salmonella* pada ternak. *Wartazoa* 14: 143-159.
- SALZET, M., A. TASIEMSKI and E. COOPER. 2006. Innate immunity in Lophotrochozoans: The Annelids. *Curr. Pharm. Des.* 12: 1–8.
- SCHLEGEL, H.G. dan K. SCHMIDT. 1994. Mikrobiologi Umum. R.M.T. Baskoro (Penerjemah). Universitas Gadjah Mada (UGM) Press, Yogyakarta.
- SEELEY, H.W., P.J. VAN DEMARK and J.J. LEE. 2001. Microbes in Action: A Laboratory Manual of Microbiology 4<sup>th</sup> Edition. W.H. Freeman and Company, New York.
- SHIVAPRASAD, H.L. 2003. Pullorum Disease and Fowl Typhoid. *in: Disease of Poultry.* SAIF, Y.M. (Ed). 11<sup>th</sup> Edition. Iowa State Press, Ames, Iowa.
- SHIVAPRASAD, H.L. 2000. Fowl typhoid and pullorum disease. *Rev. Sci. Tech.* 19: 405-424.
- SOFOS, J.N. 2008. Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Sci.* 78: 3–13.
- TASIEMSKI, A., D. SCHIKORSKI, F. LE MARREC-CROQ, C.P-V. CAMP, C. BOIDIN-WICHLACZ and P.E. SAUTIERE. 2006. Hestidin: A novel antimicrobial peptide containing bromotryptophan constitutively expressed in the NK cells-like of the marine annelid, *Nereis diversicolor*. *Dev. Comp. Immunol.* 31: 749-762.
- VAN DEN BOGAARD, A.E., N. LONDON, C. DRIESSEN and E.E. STOBBERINGH. 2001. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *J. Antimicrob. Chemoter.* 47: 767-771.