

## PROFIL LEUKOSIT AYAM JANTAN WHITE LEGHORN PASCA PEMBERIAN PROBIOTIK *Bacillus subtilis*

### LEUKOCYTES PROFILE ON EHITE LEGHORN AFTER GIVEN BACILLUS SUBTILIS

Muhammad Farid Rizal, Umi Kalsum, Inggit Kentjonowaty

Magister Peternakan

Universitas Islam Malang

Email : [Farridrizal@uwks.ac.id](mailto:Farridrizal@uwks.ac.id)

#### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui performan imunitas (leukosit, sel goblet dan ekspresi MMP-9) ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probiotik *Bacillus subtilis*. Metode penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL). Sampel yang digunakan adalah 24 ekor ayam jantan *white leghorn* yang dibagi menjadi 4 perlakuan yang terdiri sebagai berikut: P0 : kontrol yang tidak diberikan perlakuan, P1: terdiri dari 6 ekor ayam jantan *white leghorn* yang diberikan probiotik *Bacillus subtilis*  $2,5 \times 10^6$ CFU/ hari/ekor, P2: terdiri dari 6 ekor ayam jantan *white leghorn* yang diberikan probiotik *Bacillus subtilis*  $3,9 \times 10^7$  CFU/ hari/ekor, P3: terdiri dari 6 ekor ayam jantan *white leghorn* yang diberikan probiotik *Bacillus subtilis*  $5,3 \times 10^8$  CFU/ hari/ekor, variabel pada penelitian ini adalah : neutrofil, basofil, eusinofil, limfosit, monosit, sel goblet, ekspresi MMP-9 dan panjang vili usus. Data yang diperoleh dari penelitian ini akan ditabulasi kemudian diolah menggunakan ANOVA dan dialanjutkan dengan uji Duncan's untuk mengetahui kemaknaan dalam setiap kelompoknya. Hasil penelitian: Terdapat pengaruh ( $P < 0,05$ ) nilai neutrofil P0 :  $(45,5\% \pm 7,0)$ , P1  $(52,6\% \pm 2,6)$ , P2 :  $(67,0\% \pm 5,2)$ , P3 :  $(66,6\% \pm 3,1)$ . Tidak terdapat pengaruh ( $P > 0,05$ ) nilai eusinofil P0:  $(3,3\% \pm 1,03)$ , P1 :  $(0,5\% \pm 0,836)$ , P2 :  $(1,0,0\% \pm 0,8)$ , P3 :  $(0,8\% \pm 0,9)\%$ . Tidak terdapat pengaruh ( $P > 0,05$ ) nilai basofil P0:  $(1\% \pm 0,89)$ , P1:  $(1\% \pm 0,89)$ , P2:  $(1\% \pm 0,89)$ , P3:  $(1,3\% \pm 1,0)$ . Terdapat pengaruh ( $P < 0,05$ ) nilai limfosit P0:  $(23,3\% \pm 3,9)$ , P1 :  $(12,4\% \pm 2,2)$ , P2 :  $(30,6\% \pm 3,0)$ , P3 :  $(31,3\% \pm 4,5)$ . Terdapat pengaruh ( $P < 0,05$ ) nilai monosit P0 :  $(12,5\% \pm 1,8)$ , P1 :  $(12,4\% \pm 2,2)$ , P2 :  $(18,5\% \pm 1,0)$ , P3 :  $(24,5\% \pm 2,2)$ . Semakin meningkatnya dosis probiotik *Bacillus subtilis* cenderung meningkatkan rerata jumlah neutrofil, limfosit dan monosit ayam jantan *white leghorn*. Semakin meningkatnya dosis probiotik *Bacillus subtilis* tidak mempengaruhi rerata eusinofil dan basofil yang relatif sama dengan kontrol.

**Kata Kunci:** *Bacillus subtilis*, leukosit, *white leghorn*.

#### Abstract

This study aimed to determine the performance of immunity (leukocytes, goblet cells and MMP-9) expression of white leghorn roosters after presenting *Bacillus subtilis* probiotics. Experimental research method with completely randomized design (CRD). The samples used were 24 white leghorn roosters which were divided into 4 treatments consisting of the following: P0 : control that was not given treatment, P1: consisted of 6 white leghorn roosters who were given probiotic *Bacillus subtilis*  $2.5 \times 10^6$ CFU/day/head , P2: consisted of 6 white leghorn roosters given *Bacillus subtilis* probiotic  $3.9 \times 10^7$  CFU/day/head, P3: consisted of 6 white leghorn roosters given *Bacillus subtilis* probiotic  $5,3 \times 10^8$  CFU/day/head, The variables in this study were: neutrophils, basophils, eosinophils, lymphocytes, monocytes, goblet cells, MMP-9 expression and intestinal villi length. The data

*obtained from this study will be tabulated and then processed using ANOVA and followed by Duncan's test to determine the meaning in each group. The results: There is an influence value ( $P<0.05$ ) neutrophils P0: ( $45.5\% \pm 7.0$ ), P1 ( $52.6\% \pm 2.6$ ), P2: ( $67.0\% \pm 5.2$ ), P3 : ( $66.6\% \pm 3.1$ ). There was no effect ( $P>0.05$ ) on the value of eosinophils P0: ( $3.3\% \pm 1.03$ ), P1: ( $0.5\% \pm 0.836$ ), P2: ( $1.0\% \pm 0.8$ ), P3 : ( $0.8\% \pm 0.9$ ). There was no effect ( $P>0.05$ ) basophil values P0: ( $1\% \pm 0.89$ ), P1: ( $1\% \pm 0.89$ ), P2: ( $1\% \pm 0.89$ ), P3: ( $1, 3\% \pm 1.0$ ). There was an effect ( $P<0.05$ ) on the lymphocyte values P0: ( $23.3\% \pm 3.9$ ), P1: ( $12.4\% \pm 2.2$ ), P2 : ( $30.6\% \pm 3.0$ ), P3 : ( $31.3\% \pm 4.5$ ). There was an effect ( $P<0.05$ ) on monocyte values P0: ( $12.5\% \pm 1.8$ ), P1: ( $12.4\% \pm 2.2$ ), P2: ( $18.5\% \pm 1.0$ ), P3 : ( $24.5\% \pm 2.2$ ). Conclusion: The increasing dose of *Bacillus subtilis* probiotics tends to increase the average number of neutrophils, lymphocytes and monocytes, The increasing dose of probiotic *Bacillus subtilis* did not affect the mean eosinophils and basophils which were relatively the same as the control.*

**Key words:** *Bacillus subtilis, leucocytes, whitelwghorn.*

## PENDAHULUAN

Probiotik merupakan sebuah zat pakan tambahan yang dapat mengurangi atau bahkan menggantikan penggunaan antibiotik yang selama ini dapat mengurangi terjadinya resistensi mikroba akibat penggunaan antibiotik pada produk asal hewan (Alaynde et al., 2020; Sheng-Qiu et al., 2013; Allen et al., 2013; Retta, 2016). Probiotik dapat meningkatkan produktivitas hewan dan melawan kolonisasi bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit pada hewan ternak. Selama ini probiotik konvensional terbuat dari isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari saluran pencernaan hewan, penggunaan probiotik yang berisi bakteri asam laktat yang berlebihan atau ketika kondisi hewan, sedang mengalami penurunan fungsi fisiologis akan dapat menyebabkan kejadian asidosis saluran pencernaan ataupun asidosis sistemik yang memiliki resiko kematian hewan (SubroNto, 2003; Calsamiglia et al., 2012). *Bacillus subtilis* merupakan bakteri gram positif, membentuk spora, motil, serta dapat diisolasi dari tanah, sayuran, feses manusia maupun hewan (Cao et al., 2011). Penelitian probiotik *Bacillus subtilis* pada ayam mulai banyak dilakukan, dilaporkan oleh Bai et al., (2018) suplementasi *Bacillus subtilis* dapat meningkatkan kapasitas antioksidan dalam pakan, *Bacillus subtilis* dapat mereduksi heat stress dan memperbaiki prilaku ayam yang stres, juga dapat mengurangi derajat inflamasi yang diinduksi oleh panas (Wang et al., 2018).

## METODELOGI PENELITIAN

Metode penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL). Sampel yang digunakan adalah 24 ekor ayam jantan white leghorn yang dibagi menjadi 4 perlakuan yang terdiri sebagai berikut: P0 : kontrol yang tidak diberikan perlakuan, P1: terdiri dari 6 ekor ayam jantan white leghorn yang diberikan probiotik *Bacillus subtilis*  $2,5 \times 10^6$  CFU/ hari/ekor, P2: terdiri dari 6 ekor ayam jantan white leghorn yang diberikan probiotik *Bacillus subtilis*  $3,9 \times 10^7$  CFU/ hari/ekor, P3: terdiri dari 6 ekor ayam jantan white leghorn yang diberikan probiotik *Bacillus subtilis*  $5,3 \times 10^8$  CFU/ hari/ekor, variabel pada penelitian ini adalah : neutrofil, basofil, eusinofil, limfosit, monosit, sel goblet, ekspresi MMP-9 dan panjang vili usus. Data yang diperoleh dari penelitian ini akan ditabulasi kemudian diolah menggunakan ANOVA dan dialanjutkan dengan uji Duncan's untuk mengetahui kemaknaan dalam setiap kelompoknya.

## HASIL PENELITIAN

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh nyata ( $P<0,05$ ) pertambahan dosis probiotik *Bacillus subtilis* terhadap jumlah neutrofil. Uji dilanjutkan dengan uji Duncan's. Rata-rata nilai neutrofil dapat dilihat pada .

### **Rerata jumlah neutrofil ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probioik *Bacillus subtilis***

Perlakuan	Mean %±Std.Deviasi
P0	45,5±7,0 <sup>a</sup>
P1	52,6±2,6 <sup>b</sup>
P2	67,0±5,2 <sup>c</sup>
P3	66,6±3,1 <sup>c</sup>

Keterangan : huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata.

## Eusinofil

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh nyata ( $P<0,05$ ) pertambahan dosis probiotik *Bacillus subtilis* terhadap jumlah eusinofil. Uji dilanjutkan dengan uji Duncan's. Rata-rata nilai eusinofil dapat dilihat pada **Rerata jumlah eusinofil ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probioik *Bacillus subtilis***

Perlakuan	Mean%±Std.Deviasi
P0	3,3±1,03
P1	0,5±0,83
P2	1,0±0,8
P3	0,8±0,9

Keterangan : tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

## 4Basofil

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh nyata ( $P<0,05$ ) pertambahan dosis probiotik *Bacillus subtilis* terhadap jumlah basofil. Uji dilanjutkan dengan uji Duncan's. Rata-rata nilai basofil dapat dilihat pada .

### **Tabel 4.3 Rerata jumlah basofil ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probioik *Bacillus subtilis***

Perlakuan	Mean%±Std.Deviasi
P0	1±0,89
P1	1±0,89
P2	1±0,89
P3	1,3±1,0

Keterangan : tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

**Limfosit**

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh nyata ( $P<0,05$ ) pertambahan dosis probiotik *Bacillus subtilis* terhadap jumlah limfosit. Uji dilanjutkan dengan uji Duncan's. Rata-rata nilai limfosit dapat dilihat pada.

**Tabel Rerata jumlah limfosit ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probioik *Bacillus subtilis***

Perlakuan	Mean% $\pm$ Std.Deviasi
P0	20,1 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>
P1	23,3 $\pm$ 3,9 <sup>a</sup>
P2	30,6 $\pm$ 3,0 <sup>b</sup>
P3	31,3 $\pm$ 4,5 <sup>b</sup>

Keterangan : huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata.

**Monosit**

**Rerata jumlah monosit ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probioik *Bacillus subtilis***

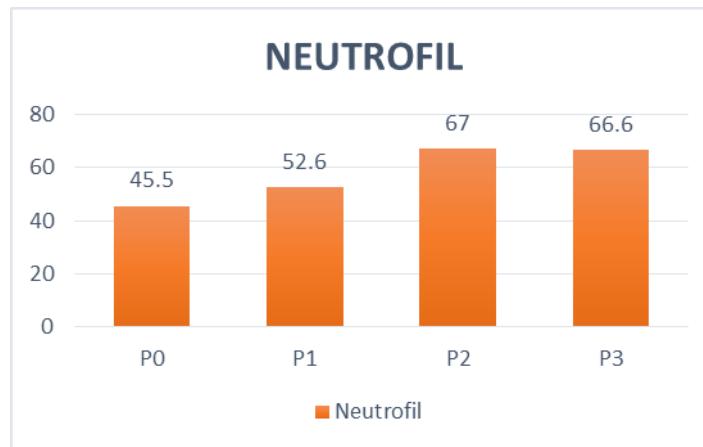
Berdasarkan analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh nyata ( $P<0,05$ ) pertambahan dosis probiotik *Bacillus subtilis* terhadap jumlah monosit. Uji dilanjutkan dengan uji Duncan's. Rata-rata nilai monosit dapat dilihat pada

Perlakuan	Mean% $\pm$ Std.Deviasi
P0	12,5 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>
P1	12,4 $\pm$ 2,2 <sup>a</sup>
P2	18,5 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>
P3	24,5 $\pm$ 2,2 <sup>c</sup>

Keterangan : huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata.

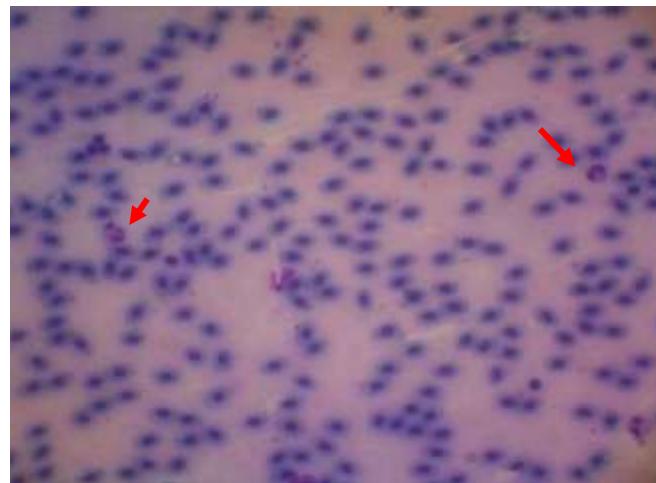
**PEMBAHASAN**

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa rerata jumlah neutrofil P0 : (45,5 $\pm$ 7,0), P1 : (52,6 $\pm$ 2,6), P2 : (67,0 $\pm$ 5,2), P3 : (66,6 $\pm$ 3,1) pada ayam jantan *white leghorn* yang diberikan probiotik *Bacillus subtilis* menunjukkan pengaruh peningkatan ( $P<0,05$ ) dibanding kontrol (P0) yang tidak diberikan *Bacillus subtilis*. Rerata jumlah neutrofil dapat dilihat pada grafik yang diasajikan pada gambar 5.1.



**Gambar** Grafik rataan jumlah neutrofil ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probiotik *Bacillus subtilis*.

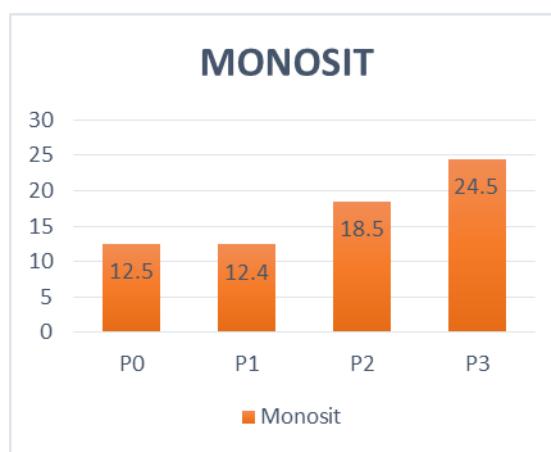
Rerata jumlah neutrofil cenderung mengalami peningkatan dengan bertambahnya dosis probiotik *Bacillus subtilis* yang diberikan pada ayam jantan *white leghorn*. dimungkinkan karena probiotik *Bacillus subtilis* memiliki aktivitas sebagai imunomodulator, peningkatan dosis pemberian probiotik *Bacillus subtilis* dapat meningkatkan rerata jumlah neutrofil, Menurut Castillo *et al.*, (2011) Pemberian probiotik dapat meningkatkan ekspresi *Toll like receptor 2* (TLR2, TLR4 and TLR9 dan meningkatkan produksi dan sekresi TNF- $\alpha$ , IFN $\gamma$  and IL-10. Aktivasi TLR oleh probiotik akan mengaktifasi NF-kb, sehingga akan menyebabkan makrofag sebagai *Antigen Presenting cell* (APC) akan melepaskan sitokin-sitokin untuk merangsang tubuh host memproduksi dan mensekresikan sejumlah sel darah putih lainnya (Rocha-Ramírez *et al.*, 2017). Selain itu probiotik dapat meningkatkan integrin dan selectin yang berfungsi sebagai protein adesi yang akan meningkatkan migrasinya sejumlah sel darah putih yang telah dibentuk pada sumsum tulang belakang untuk dialirkan ke darah ataupun lokasi yang mengalami *injury*. Menurut data yang dilaporkan Asmara dan Santosa (2019) suplementasi probiotik dapat meningkatkan total leukosit, peningkatan jumlah leukosit tersebut diyakini akibat aktivasi dari makrofag yang akan meregulasi peningkatan jumlah produksi sel leukosit lainnya. Morfologi neutrofil dapat dilihat pada gambar.



**Gambar** Hasil ulas darah ayam jantan *white leghorn* dengan pewarnaan giemsa perbesaran 1000x. Ditunjuk tanda panah merah adalah neutrofil.

### Monosit

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa rerata jumlah monosit P0 : (12,5±1,8), P1 : (12,4±2,2), P2 : (18,5±1,0) P3: (24,5±2,2) pada ayam jantan *white leghorn* yang diberikan probiotik *Bacillus subtilis* menunjukkan pengaruh peningkatan ( $P<0,05$ ) dibanding kontrol (P0) yang tidak diberikan *Bacillus subtilis*. Rerata jumlah neutrofil dapat dilihat pada grafik yang diasajikan pada gambar.



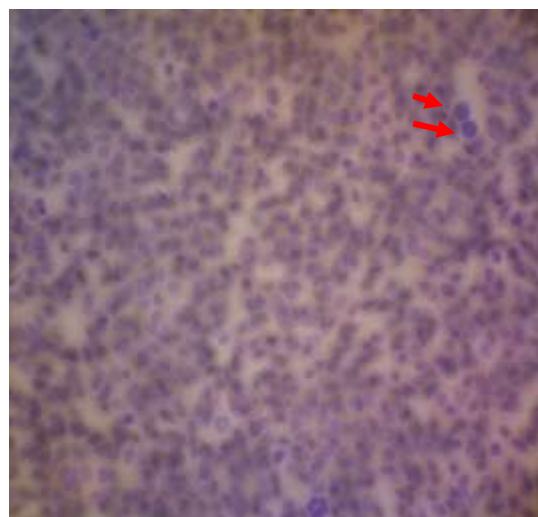
**Gambar** Grafik rataan jumlah monosit ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probiotik *Bacillus subtilis*.

Rerata jumlah monosit cenderung mengalami peningkatan dengan bertambahnya dosis probiotik *Bacillus subtilis* yang diberikan pada ayam jantan *white leghorn*. Tingginya dosis pemberian *Bacillus subtilis* dapat meningkatkan jumlah proliferasi leukosit. *Bacillus subtilis* memungkinkan tingginya aktivasi sel darah putih lebih signifikan dibanding dengan

kontrol. Monosit pada pembuluh darah disebut sebagai makrofag, makrofag ketika bertemu dengan *Bacillus subtilis* akan mempresentasikannya kepada sel imunitas lainnya untuk merangsang keberadaan *Bacillus subtilis* sehingga terjadi aktivifikasi terhadap sel imunitas lainnya. Pemberian *Bacillus subtilis* terhadap leukosit mekanismenya tepatnya yang bertanggung jawab untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan tidak jelas, *Bacillus spp* dilaporkan dapat menghasilkan berbagai macam vitamin (vitamin K dan B12) yang akan membantu peningkatan sistem imunitas (Mahdinia *et al.*, 2018) dan enzim ekstraseluler (esterase, protease, amilase, selulase) (Azarin *et al.*, 2015; Sholihati dkk., 2015). Enzim-enzim ekstra seluler dapat mensponsori migrasi sel darah putih, misalnya *Matrixmetalloproteinase* (MMP) muncul sebagai enzim efektor kritis yang mengendalikan berbagai fungsi kekebalan

spesifik, memiliki peran penting dalam mengatur fungsi leukosit (Dofour and Overall, 2013). MMP-9 akan diproduksi untuk memodulasi sel limfosit T melalui pembelahan CD25 dan akan meregulasi IL-2 untuk merekrut pembentukan sel darah putih lainnya, disisi lain Makrofag menghasilkan MMP-10 untuk mengaktifasi produksi makrofag (Smegiel and Parks, 2017).

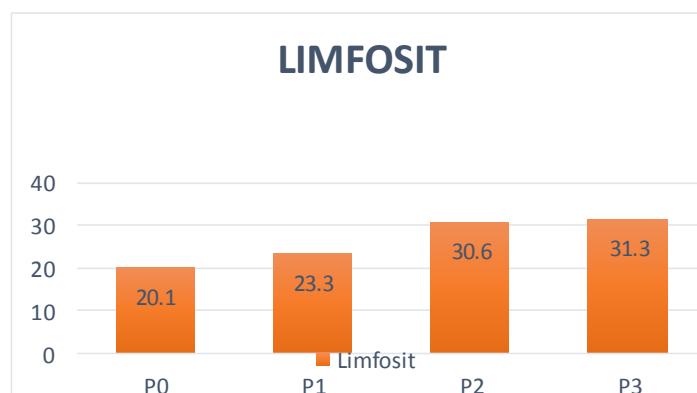
Berdasarkan hasil penelitian Sun *et al* (2010) pemberian *Bacillus subtilis* pada ikan menunjukkan stimulasi fagositosis makrofag. Dilaporkan juga oleh Galagarza *et al* (2018) suplementasi probiotik asal *Bacillus subtilis* dapat meningkatkan aktivitas imun bawaan. Morfologi dari monosit dapat dilihat pada gambar 5.4



**Gambar** Hasil ulas darah ayam jantan *white leghorn* dengan pewarnaan giemsa perbesaran 1000x. Ditunjuk panah merah adalah monosit

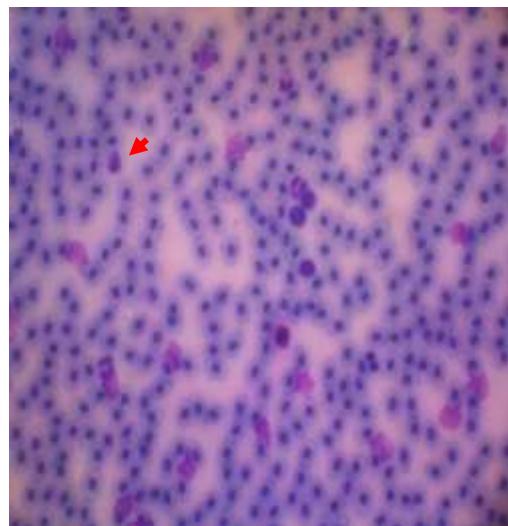
### Limfosit

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa rerata jumlah limfosit P0 : (20,1±1,1), P1: (23,3±3,9), P2 : (30,6±3,0), P3 : (31,3±4,5) pada ayam jantan *white leghorn* yang diberikan probiotik *Bacillus subtilis* menunjukkan pengaruh peningkatan ( $P<0,05$ ) dibanding kontrol (P0) yang tidak diberikan *Bacillus subtilis*. Rerata jumlah limfosit dapat dilihat pada grafik yang diasajikan pada gambar.



**Gambar** Grafik rataan jumlah limfosit ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probiotik *Bacillus subtilis*.

Rerata jumlah limfosit cenderung mengalami peningkatan dengan bertambahnya dosis probiotik *Bacillus subtilis* yang diberikan pada ayam jantan *white leghorn*. probiotik dapat meningkatkan integrin dan selectin yang berfungsi sebagai protein adesi yang akan meningkatkan migrasinya sejumlah sel darah putih yang telah dibentuk pada sumsum tulang belakang untuk dialirkan ke darah ataupun lokasi yang mengalami *injury*. Menurut data yang dilaporkan Asmara dan Santosa (2019) suplementasi probiotik dapat meningkatkan total leukosit, peningkatan jumlah leukosit tersebut diyakini akibat aktivasi dari makrofag yang akan meregulasi peningkatan jumlah produksi sel leukosit lainnya. Menurut Yang *et al* (2020) Probiotik *Bacillus subtilis* dapat meningkatkan sel darah putih khususnya limfosit dan monosit pada kambing yang terinfeksi *Haemonchus contortus*. Penelitian serupa juga pernah dilaporkan oleh Zhang *et al* (2020) babi yang diimunisasi dengan recombinan protein dari *Bacillus subtilis* menunjukkan peningkatan respon antibodi yang baik. Antibodi pada vertebrata diproduksi oleh limfosit B. peningkatan dosis *Bacillus subtilis* pada ayam *white leghorn* dapat menstimulasi peningkatan limfosit yang baik dibanding kelompok yang tidak diberikan perlakuan. Morfologi limfosit dapat dilihat pada gambar.



**Gambar** Hasil ulas darah ayam jantan *white leghorn* dengan pewarnaan giemsa perbesaran 1000x. Ditunjuk panah merah adalah limfosit.

### Eusinofil

Berdasarkan analisis ragam pada variabel eusinofil ayam jantan *white leghorn* pasca diberikan probiotik *Bacillus subtilis* tidak menunjukkan pengaruh peningkatan jumlah rerata ( $P<0,05$ ) dimana nilai rerata masing-masing perlakuan adalah berikut P1:  $(0,5\pm0,83)$ , P2:  $(1,0\pm0,8)$ , P3 :  $(0,83\pm0,9)$ .

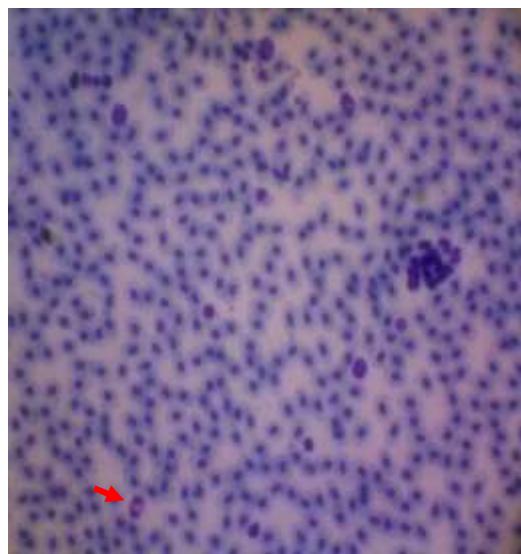
Rerata jumlah limfosit dapat dilihat pada grafik yang diasajikan pada gambar.



**Gambar** Grafik rataan jumlah eusinofil ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probiotik *Bacillus subtilis*

Rerata jumlah eusinofil pada masing masing perlakuan dengan pemberian probiotik *Bacillus subtilis* cenderung mengalami penurunan jumlah. Hal ini dikarenakan fungsi utama eusinofil adalah untuk merangsang parasit dan alergen. Probiotik *Bacillus subtilis* merupakan

sebuah flora normal dalam saluran penceraan ayam dan merupakan bukan alergen, sehingga pemberian probiotik ini tidak dapat meningkatkan jumlah eusinofil didalam darah ayam pejantan *white leghorn*. Eusinofil didalam tubuh hanya diproduksi tidak lebih dari 3%. Eusinofil memiliki fungsi terhadap pertahanan agen parasiter misalnya cacing, protozoa dan arthropoda. Eusinofil biasanya diaktivasi bersama basofil akibat histamin yang disekreksikan oleh agen parasit ataupun oleh alergen, eusinofil berfungsi dengan melepaskan granula didalam sitoplasmanyang akan mengalami perlekatan serta meracuni agen parasit (Ravin and Loy, 2016; Shahraki *et al.*, 2018; Epelman *et al.*, 2014; Lin and Loré, 2017). Morfologi eusinofil dapat dilihat pada gambar.



**Gambar** Hasil ulas darah ayam jantan *white leghorn* P2 dengan pewarnaan giemsa perbesaran 1000x. Ditunjuk oleh panah adalah eusinofil.

### **Basofil**

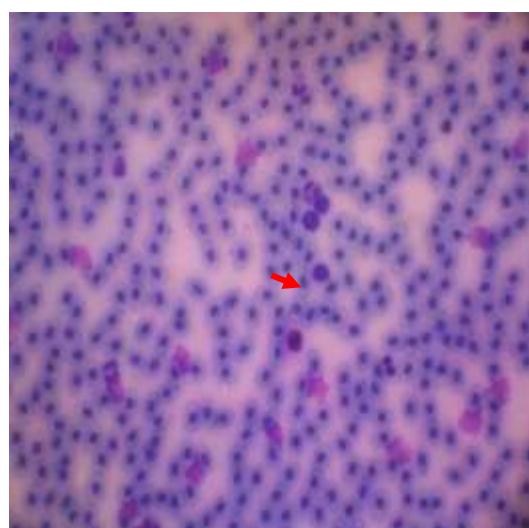
Berdasarkan analisis ragam pada variabel basofil ayam jantan *white leghorn* pasca diberikan probiotik *Bacillus subtilis* tidak menunjukkan pengaruh peningkatan jumlah rerata ( $P<0,05$ ) dimana nilai rerata masing-masing perlakuan adalah berikut P0:  $(1\pm0,89)$ , P1 :  $(1\pm0,89)$  P2 :  $(1\pm0,89)$ , P3 :  $(1,3\pm1,0)$ . Rerata jumlah basofil dapat dilihat pada grafik yang diasjikan pada gambar.



**Gambar** Grafik rataan jumlah basofil ayam jantan *white leghorn* pasca pemberian probiotik *Bacillus subtilis*.

Rerata jumlah basofil pada masing-masing perlakuan yang diberikan probiotik *Bacillus subtilis* memiliki nilai rata-rata yang hampir sama dengan kelompok kontrol. Basofil merupakan sel darah putih yang memiliki jumlah populasi hanya 1% didalam tubuh, basofil merupakan sel darah putih yang berfungsi sebagai marker adanya alergen dan infestasi nematoda. *Bacillus subtilis* merupakan bakteri bukan protozoa sehingga pemberian probiotik ini tidak dapat meningkatkan jumlah basofil dalam darah. Pemberian probiotik *Bacillus subtilis* tidak dapat secara langsung mempengaruhi jumlah basofil pada tubuh ayam. Hal ini didukung Voehringer, (2017) Nakashima *et al.*,( 2018) yang menyatakan bahwa basofil memiliki fungsi sebagai efektor proinflamasi, reaksi terhadap infeksi cacing dan alergen.

Morfologi dari basofil dapat dilihat pada gambar.



**Gambar** Hasil ulas darah ayam jantan *white leghorn* dengan pewarnaan giemsa perbesaran 1000x. Ditunjuk oleh panah adalah basofil.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Semakin meningkatnya dosis probiotik *Bacillus subtilis* cenderung meningkatkan rerata jumlah neutrofil, limfosit dan monosit ayam jantan *white leghorn*. Semakin meningkatnya dosis probiotik *Bacillus subtilis* tidak mempengaruhi rerata eusinofil dan basofil yang relatif sama dengan kontrol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alayande, K. A., Aiyegeoro, O. A., and Ateba, C. N. 2020. Probiotics in Animal Husbandry: Applicability and Associated Risk Factors. *Sustainability*, 12(3), 1087.
- Al-Fataftah, A. R., and Abdelqader, A. 2014. Effects of dietary *Bacillus subtilis* on heat-stressed broilers performance, intestinal morphology and microflora composition. *Animal Feed Science and Technology*, 198, 279-285.
- Azarin, H., Aramli, M. S., Imanpour, M. R., and Rajabpour, M. 2015. Effect of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* and ferroin solution on growth performance, body composition and haematological parameters in Kutum (*Rutilus frisii kutum*) fry. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 7(1), 31-37.
- Bai, K., Huang, Q., Zhang, J., He, J., Zhang, L., and Wang, T. 2017. Supplemental effects of probiotic *Bacillus subtilis* fmbJ on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 96(1), 74-82.
- Calsamiglia, S., Blanch, M., Ferret, A., and Moya, D. 2012. Is subacute ruminal acidosis a pH related problem? Causes and tools for its control. *Animal Feed Science and Technology*, 172(1-2), 42-50.
- Cao, Y., Zhang, Z., Ling, N., Yuan, Y., Zheng, X., Shen, B., and Shen, Q. 2011. *Bacillus subtilis* SQR 9 can control Fusarium wilt in cucumber by colonizing plant roots. *Biology and fertility of soils*, 47(5), 495-506.
- Dufour A and Overall CM. 2013. Missing the target: matrix metalloproteinase antitargets in inflammation and cancer. *Trends Pharmacol Sci*. 34(4):233-42. doi: 10.1016/j.tips.2013.02.004. Epub 2013 Mar 26. PMID: 23541335.
- Epelman, S., Lavine, K. J., and Randolph, G. J. 2014. *Origin and Functions of Tissue Macrophages*. *Immunity*, 41(1), 21–35. doi:10.1016/j.jimmuni.2014.06.013.

- Galagarza, O. A., Smith, S. A., Drahos, D. J., Eifert, J. D., Williams, R. C., and Kuhn, D. D. 2018. Modulation of innate immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary supplementation of *Bacillus*
- Lin, A., and Loré, K. 2017. Granulocytes: new members of the antigen-presenting cell family. *Frontiers in immunology*, 8, 1781.
- Nakashima, C., Otsuka, A., and Kabashima, K. 2018. Recent advancement in the mechanism of basophil activation. *Journal of dermatological science*, 91(1), 3-8.
- Retta, K. S. 2016. Role of probiotics in rumen fermentation and animal performance: a review. *International Journal of Livestock Production*, 7(5), 24-32.
- Rocha-Ramírez, L. M., Pérez-Solano, R. A., Castañón-Alonso, S. L., Moreno Guerrero, S. S., Ramírez Pacheco, A., García Garibay, M., and Eslava, C. 2017. Probiotic *Lactobacillus* strains stimulate the inflammatory response and activate human macrophages. *Journal of immunology research*, 2017.
- Smigiel, K. S., and Parks, W. C. 2017. Matrix metalloproteinases and leukocyte activation. *Progress in molecular biology and translational science*, 147, 167-195.
- Wang, W. C., Yan, F. F., Hu, J. Y., Amen, O. A., and Cheng, H. W. 2018. Supplementation of *Bacillus subtilis*-based probiotic reduces heat stress-related behaviors and inflammatory response in broiler chickens. *Journal of animal science*, 96(5), 1654-1666.
- Yang, Y., Zhang, G., Wu, J., Chen, X., Tong, D., Yang, Y., ... & Du, A. (2020). Recombinant HcGAPDH Protein Expressed on Probiotic *Bacillus subtilis* Spores Protects Sheep from *Haemonchus contortus* Infection by Inducing both Humoral and Cell-Mediated Responses. *Msystems*, 5(3), e00239-20.
- Zhang, S., Mou, C., Cao, Y., Zhang, E., and Yang, Q. (2020). Immune response in piglets orally immunized with recombinant *Bacillus subtilis* expressing the capsid protein of porcine circovirus type 2. *Cell Communication and Signaling*, 18(1), 1-14.
- Zhang, W., Zhu, Y. H., Zhou, D., Wu, Q., Song, D., Dicksved, J., and Wang, J. F. 2017. Oral administration of a select mixture of *Bacillus* probiotics affects the gut microbiota and goblet cell function following *Escherichia coli* challenge in newly weaned pigs of genotype MUC4 that are supposed to be enterotoxigenic *E. coli* F4ab/ac receptor negative. *Applied and environmental microbiology*, 83(3).