

## ISOLASI BAKTERI KANDIDAT PROBIOTIK DARI ISI USUS HALUS AYAM KAMPUNG UNTUK MENINGKATKAN PRODUKTIVITAS AYAM PEDAGING

Heru Nurcahyo<sup>1)</sup>, Evy Yulianti<sup>2)</sup>, Himmatul Hasanah<sup>3)</sup>, Desi Dwi  
Ariyanti<sup>4)</sup>, Puput Saputri<sup>5)</sup>

Juridik Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA),  
Universitas Negeri Yogyakarta  
email: [herunurcahyo62@gmail.com](mailto:herunurcahyo62@gmail.com)

**Abstrak.** Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat (BAL) dari isi usus halus ayam kampung (*Gallus-gallus bankiva*) yang memiliki potensi sebagai probiotik dalam rangka menemukan metode baru untuk meningkatkan produktivitas ayam pedaging. Penelitian eksploratif ini untuk isolasi BAL dari isi usus halus ayam kampung dan karakterisasi jenis spesies bakteri berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni, morfologi sel menggunakan metode pengecatan Gram, dan pengujian sifat-sifat bakteri dengan uji biokimia dan fisiologi yang meliputi: uji katalase, tipe fermentasi, dan uji kemampuan memproduksi asam laktat, dan uji ketahanan terhadap lingkungan asam. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan berpedoman pada *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Krieg & Holt, 1984). Penelitian eksploratif ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Jurdik Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Negeri Yogyakarta (UNY). Hasil penelitian yang diperoleh membuktikan bahwa isolat bakteri dari isi usus ayam kampung dapat tumbuh pada media MRS CaCO<sub>3</sub> membentuk zona jernih, Gram +, katalase -, dan dapat memfermentasi berbagai jenis monosakarida berdasarkan hasil isolasi dan karakterisasi tersebut maka dapat diidentifikasi bahwa isolat bakteri tersebut adalah bakteri asam laktat (BAL) genus *Lactobacillus sp.* Berdasarkan kemampuan hidup dan bertahan terhadap garam empedu, dan tahan terhadap lingkungan pH asam, maka dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri tersebut merupakan bakteri kandidat probiotik.

**Kata kunci:** Bakteri asam laktat (BAL), ayam kampung, probiotik.

### PENDAHULUAN

Ayam pedaging (broiler) merupakan sumber protein hewani utama yang relatif murah dan digemari oleh kebanyakan warga masyarakat. Salah satu permasalahan budidaya ayam pedaging dalam populasi besar secara intensif antara lain kerentanan ayam terhadap serangan berbagai penyakit yang mengakibatkan kematian ayam broiler dan kerugian ekonomi yang tidak sedikit. Kerentanan ayam terhadap penyakit berkaitan erat dengan daya tahan tubuh (imunitas) yang rendah. Selain itu, penggunaan antibiotik secara terus-menerus justru kurang menguntungkan bagi ternak ayam karena dapat menimbulkan resistensi terhadap kuman patogen. Berbagai usaha telah dilakukan untuk mengatasi hal tersebut salah satunya dengan menerapkan teknologi di bidang mikrobiologi dan imunologi yang kini telah berkembang dengan pesat. Berbagai penelitian yang dikembangkan di bidang ini telah membuahkan hasil yang mengagumkan yakni suatu bioteknologi yang disebut dengan probiotik. Probiotik telah terbukti dapat digunakan untuk mengatasi masalah kerentanan terhadap penyakit infeksi (morbiditas) dan angka kematian (mortalitas) pada berbagai hewan ternak dan memberi efek yang baik bagi kesehatan. Bakteri-bakteri tertentu yang memiliki potensi dibutuhkan sebagai agen probiotik. Hasil beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa bakteri asam laktat (BAL) dapat meningkatkan imunitas. Menurut Heru Nurcahyo dkk.

(2011), BAL dari jenis *Enterococcus faecium* dapat meningkatkan imunitas pada ayam broiler.

Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk bulat atau batang, memproduksi asam laktat sebagai produk akhir dari fermentasi glukosa, katalase negatif, mikroaero-toleran dan asidotoleran (Ibourahema *et al.*, 2008). Pada hewan ternak, BAL merupakan kelompok bakteri yang terdiri atas berbagai jenis, dan dijumpai diberbagai habitat, terdapat dalam berbagai makanan dan sebagai mikroflora normal yang hidup dalam saluran pencernaan (Diep *et al.*, 2009). Salminen, *et al.*, (1999) mengatakan bahwa BAL merupakan mikrobia yang memberikan efek menguntungkan terhadap kesehatan hospes. Beberapa model aksi dari peran BAL telah ditulis dalam berbagai literatur seperti; mengontrol bakteri patogen, memacu respon imun, berkompetisi dengan toksin yang dihasilkan oleh bakteri untuk melekat pada reseptor yang terdapat dalam epitelium usus halus dan mengubah metabolisme dengan meningkatkan aktivitas enzim pencernaan, memfermentasi glukosa menjadi asam laktat, tidak patogen dan aman dikonsumsi, mencegah pertumbuhan bakteri merugikan, meningkatkan pencernaan dan absorpsi (Albert Balows *et al.*, 1992). Menurut Collado *et al.*, (2009), bahwa BAL termasuk mikrobiota yang memegang peranan penting bagi terciptanya kondisi kesehatan ternak karena terlibat dalam meningkatkan kualitas nutrisi, respon imun dan fungsi fisiologi. Menurut Amerah *et al.*, (2013), bahwa pemberian suplemen BAL pada ransum ayam pedaging penting untuk mengatasi penyakit akibat stress domestikasi atau lainnya, jika tidak ayam mudah terserang penyakit infeksius. Menurut Gabriela Perdigón *et al.*, (2001), BAL memegang peranan penting dalam pengaturan sistem kekebalan tubuh hospes.

Kontribusi dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat untuk pengembangan bioteknologi khususnya pemanfaatan bakteri asam laktat (BAL) sebagai probiotik untuk peningkatan produktivitas ternak ayam pedaging. Oleh karena itu, perlu dilakukan isolasi BAL dari isi usus halus ayam kampung dengan pertimbangan bahwa ayam kampung (*Gallus-gallus bankiva*) merupakan unggas yang memiliki sifat relatif lebih tahan terhadap serangan berbagai penyakit unggas (Heru Nurcahyo, 2003). Rumusan masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut: bagaimana mengisolasi, mengidentifikasi, dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat (BAL) yang diperoleh dari isi usus halus ayam kampung (*Gallus-gallus bankiva*) yang memiliki potensi sebagai probiotik.

## Tujuan

Penelitian ini secara khusus bertujuan untuk: Mengisolasi, menemukan, dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat (BAL) yang diperoleh dari isi usus halus ayam kampung (*Gallus-gallus bankiva*), dan mengkaji peran bakteri tersebut sebagai kandidat probiotik pada ayam pedaging.

## METODE

### Alat dan Bahan

**Alat:** Clean bench, autoclave, pH meter digital, vortex mixer, sentrifuse, inkubator, anaerob bag, magnetig stirrer, microscope, fotomicrograph, berbagai ukuran tabung Erlenmeyer, tabung reaksi, dan pipet mikro.

**Bahan:** Semua bahan kimia yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah *analytical grade* diproduksi oleh Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Media De Man, Rogosa, and Sharpe (MRS) dan nutrient broth media diproduksi oleh Oxoid Ltd. (Basingstoke, UK), *ox bile* (Fluka Biochemika, Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland). NaCl fisiologis 0,9%, spuit steril ukuran 26 gauge, tip pipet mikro, gunting steril, *gloves* (sarung tangan karet).

## Teknik Pengumpulan Data

### Isolasi dan Karakterisasi BAL

Isolasi bakteri dilakukan dengan cara mengambil bakteri dari sampel isi usus halus ayam kampung yaitu dari bagian duodenum, yeyenum dan ileum secara aseptis sebanyak 10 gr kemudian diambil 1 gr dan ditambahkan aquades steril 90 ml, dihomogenisasi dengan menggunakan *vortex mixer* selama 1-2 menit, setelah itu diencerkan secara bertingkat menjadi  $10^{-6}$ . Selanjutnya ditumbuhkan pada medium de Man Rogosa and Sharpe (MRS) cair steril 15-20 ml dan diinkubasikan dalam kondisi anaerob pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Masing-masing koloni yang tumbuh dan memiliki penampakan berbeda diisolasi dan dimurnikan dengan metode goresan (*streak plate*) pada media MRS agar padat yang ditambah kalsium bikarbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) (Sigma-Aldrich Co.) kemudian diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam sehingga diperoleh isolat murni sebagai kandidat BAL. Isolat bakteri disubkultur paling sedikit 2 kali sebelum digunakan untuk penelitian dan dibuat kultur induk (*stock cultures*) untuk persediaan dan disimpan pada suhu beku  $-70^{\circ}\text{C}$  sampai saat akan digunakan. Isolasi bakteri ini mengikuti langkah-langkah seperti yang telah dilakukan oleh Schiffrin *et al.*, (2010), dan juga oleh Hatice Yavuzdurmaz (2007).

### Karakterisasi BAL

Karakterisasi genus bakteri ditentukan berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni yang kemudian dilanjutkan dengan pengujian sifat-sifat bakteri dengan uji fisiologi dan uji biokimia yang meliputi: uji tipe fermentasi, dan uji kemampuan memproduksi asam laktat.

### Pengecatan Gram

Pengamatan morfologi untuk karakterisasi genus bakteri ditentukan berdasarkan hasil pengecatan dengan metode pengecatan Gram.

### Uji katalase

Karakterisasi genus bakteri dengan metode uji katalase ditentukan berdasarkan hasil pengamatan terbentuknya gas jika terbentuk gas berarti katalase positif dan sebaliknya.

### Uji tipe fermentasi

Uji kemampuan memfermentasi berbagai gula dilakukan dalam medium TSIA yang mengandung laktosa, sukrosa, dan glukosa. Berdasarkan perubahan warna medium jika medium berubah menjadi kuning menandakan bahwa terbentuknya asam laktat.

### Uji kemampuan memproduksi asam laktat

Isolat BAL sebagai kandidat probiotik terlebih dahulu diuji secara *in vitro* untuk mengetahui kemampuan memproduksi asam laktat.

### Uji ketahanan terhadap garam empedu

Isolat BAL sebagai kandidat probiotik terlebih dahulu diuji secara *in vitro* untuk mengetahui kemampuan tumbuh dan toleransi terhadap garam empedu yang ditentukan dengan cara menumbuhkan suspensi bakteri tersebut pada MRS yang mengandung 0.075, 0.15, 0.3, and 1% (wt/vol) ox bile (Fluka Biochemika, Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland) secara anaerobik pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam.

### Uji Toleransi terhadap pH asam

Isolat BAL sebagai kandidat probiotik juga terlebih dahulu diuji secara *in vitro* untuk mengetahui kemampuan tumbuh pada pH asam.

### Analisis Data

Data hasil pengamatan yang diperoleh di analisis dengan menggunakan metode deskriptif kualitatif dengan cara membandingkan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Krieg & Holt, 1984).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

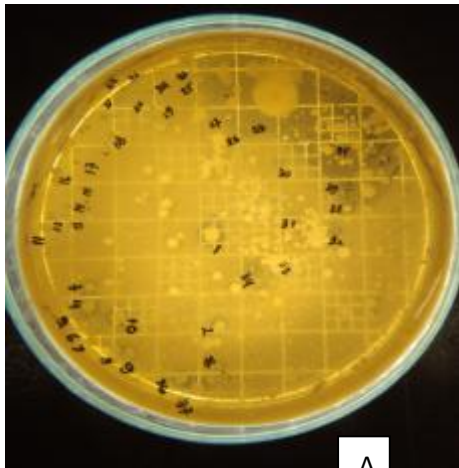
### Hasil

#### A.1. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Hasil yang telah diperoleh dari isolasi bakteri yang berasal dari isi usus halus ayam kampung dengan menggunakan medium de Man Rogosa and Sharpe (MRS) padat yang ditambah kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) dengan metode teknik goresan (*streak plate*) kemudian diinkubasikan dalam kondisi anaerob (*anaerobic bag*) pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 48 jam adalah sebanyak 56 koloni isolat murni sebagai kandidat bakteri asam laktat (BAL) dengan ciri karakter koloni dikelilingi oleh zona jernih (*Hallow zone*).

#### Koloni Isolat Bakteri Asam Laktat

Identifikasi koloni isolat bakteri asam laktat (BAL) pada umumnya memiliki sifat-sifat sebagai berikut: bentuk koloni tidak teratur (*irregular*), konfigurasi koloni tidak teratur (*irregular*) dan menyebar (*spreading*), tepi koloni bergelombang (*wavy*), *Lobate* dan elevasi menonjol (*raised*), *umbonate*, *convex*. Dari isi usus ayam kampung diperoleh isolat koloni sebanyak 56 koloni.



**Gambar 1:** Koloni yang berhi diisolasi menggunakan medium

De Man, Rogosa, and Sharpe (MRS) +  $\text{CaCO}_3$ . Hasil isolasi koloni dengan zona jernih (*hallow zone*).

Hasil reisolasi di media baru untuk memastikan bahwa hanya ada satu isolat dari 1 (satu) koloni kemudian dilakukan seleksi lebih lanjut yang mengisolasi koloni yang tumbuh dan membuat zona jernih pada medium MRS +  $\text{CaCO}_3$  diperoleh 24 koloni. Dapat dilihat pada **tabel 1** berikut.

**Tabel 1.** Hasil identifikasi koloni isolat BAL dari usus halus ayam kampung dan enthok

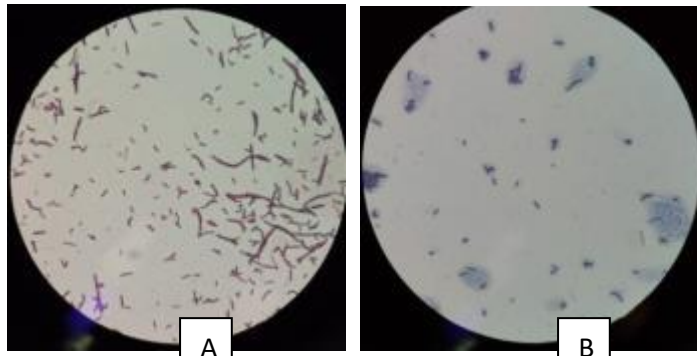
No	Isolat	Bentuk koloni	Tepian	Warna	Permukaan
1.	A-3	Sirkuler	Tidak teratur	Krem	Tidak teratur
2.	A-7	Sirkuler	Tidak teratur	Putih susu	Tidak teratur
3.	A-12	Sirkuler	Tidak teratur	Krem	Tidak teratur
4.	A-15	Sirkuler	Tidak teratur	Krem	Tidak teratur
5.	A-23	Sirkuler	Tidak teratur	Putih susu	Tidak teratur

**Keterangan:**

- A- Ayam kampung
- B-

### Pengecatan Gram

Hasil pengecatan dengan metode pengecatan Gram diperoleh 56 (lima puluh enam) bakteri dengan karakter sebagai bakteri gram+ (positif) berwarna ungu (violet) dan berbentuk batang atau cocci. Berikut gambar hasil pengamatan pengecatan Gram dan morfologi sel bakteri.



**Gambar 6:** Hasil pengecatan bakteri dengan metode Cat Gram, (A) Gram +, berbentuk batang, (B) Gram –, berbentuk batang

### Uji aktivitas enzim katalase

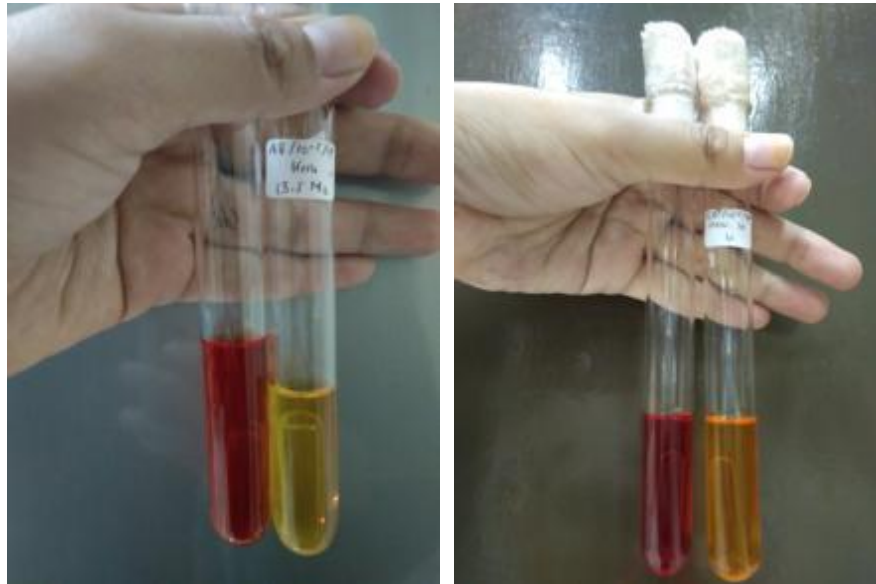
Hasil pengujian sifat-sifat bakteri dengan uji biokimia menggunakan uji aktivitas enzim katalase diperoleh hasil 24 (dua puluh empat) bakteri menunjukkan sebagai bakteri katalase– (katalase negatif) berarti tidak menghasilkan gas setelah diberi  $H_2O_2$ .

**Tabel 2.** Hasil pengecatan Gram dan uji katalase isolate BAL dari saluran usus halus ayam kampung

No	Isolat	Gram	Katalase
1.	A-3	+	+
2.	A-7	+	+
3.	A-12	+	+
4.	A-15	+	+
5.	A-23	+	+

### Uji Fermentasi KH

Hasil uji fermentasi gula-gula, BAL mampu memfermentasi karbohidrat (berbagai jenis gula) menjadi asam laktat. Gula meliputi laktosa, manitol, galaktosa. BAL bersifat sebagai bakteri homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat.



**Gambar 6:** Hasil uji kemampuan memfermentasi glukosa. (A), perubahan warna menjadi kuning menunjukkan kemampuan memfermentasikan laktosa (B), perubahan warna menjadi kuning menunjukkan kemampuan memfermentasikan maltosa

**Tabel 2.** Hasil uji fermentasi terhadap BAL dari saluran usus halus ayam kampung dan entok

No	Isolat	Laktosa	Glukosa	Maltosa	Galaktosa	Fruktosa	Sorbitol
	A-3	+	+	+	+	+	+
2.	A-7	+	+	+	+	+	+
3.	A-12	+	+	+	+	+	+
4.	A-15	+	+	+	+	+	+
5.	A-23	+	+	+	+	+	+

#### Uji ketahanan terhadap garam empedu

Isolat BAL sebagai kandidat probiotik selanjutnya diuji untuk mengetahui kemampuan tumbuh dan daya toleransi terhadap garam empedu. BAL memiliki sifat toleran terhadap garam empedu.

#### Uji Toleransi terhadap pH asam

Hasil uji isolat BAL secara *in vitro* untuk mengetahui kemampuan tumbuh pada pH asam sebagai kandidat probiotik. Semua dari mereka bisa pertumbuhan dalam kondisi semua. Semua data ini terlihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil uji ketahanan terhadap pH asam dan kemampuan hidup terhadap garam empedu

No	Isolat	Ketahanan asam	Produksi asam laktat
1.	A♂-1	Tahan (pH 3)	0,927
2.	A♂-4	Tahan (pH 3)	0,974
3.	A♂-9	Tahan (pH 3)	0,936
4.	A♀-7	Tahan (pH 3)	1,035
5.	A♀-21	Tahan (pH 3)	0,99

## Pembahasan

Berdasarkan hasil isolasi bakteri dari isi usus halus ayam kampung diperoleh isolate koloni bakteri asam laktat (BAL) sebanyak 56 koloni. Sifat koloni bakteri yang dapat tumbuh pada medium MRS yang mengandung  $\text{CaCO}_3$  dan membentuk zona jernih (*hallow zone*) di sekeliling koloni. Sharpe & Holt (1994), menjelaskan bahwa langkah awal dalam rangka mengidentifikasi BAL dapat dilakukan dengan menskrining bakteri tersebut dari sumber aslinya dengan menumbuhkan pada medium MRS yang mengandung  $\text{CaCO}_3$ . Karakter koloni isolat BAL adalah membentuk zona jernih disekeliling koloni karena asam laktat yang dihasilkan oleh BAL dapat menetralkan  $\text{CaCO}_3$ . Menurut Albert Balows *et al.* (1992), zona jernih yang terbentuk oleh koloni BAL karena 0,5%  $\text{CaCO}_3$  akan dinetralkan oleh asam organik terutama asam laktat yang dihasilkan oleh BAL. Dipilih koloni dengan diameter *hallow zone* paling luas. Menurut Albert Balows *et al.* (1992) BAL menghasilkan asam organik terutama asam laktat, semakin tinggi produksi asam laktat semakin baik untuk probiotik. Bentuk koloni bakteri asam laktat (*Lactobacillus sp.*) menurut Sneath *et al.*, (1986), memiliki sifat koloni berwarna krem, berbentuk konveks, dengan tepian halus.

Hasil pengecatan dengan metode Gram diperoleh hasil bahwa 24 isolat bakteri memiliki karakter sebagai Gram+ (Gram positif), berbentuk batang (basil) dan atau kokus (tetrad), dan tidak membentuk spora. Hal ini sesuai yang dilaporkan oleh Yoni Suryani, *et al.*, (2010), bahwa bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri Gram+ (Gram positif), tidak berspora, berbentuk bulat atau batang. Diperkuat oleh hasil penelitian Sharpe & Holt *et al.*, (1994) bahwa pada umumnya kelompok BAL memiliki karakter sebagai Gram+, berbentuk kokus (tetrad). Menurut Albert Balows *et al.* (1992), bahwa BAL merupakan bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel yang tersusun atas peptidoglikan.

Hasil uji katalase diperoleh hasil 24 (dua puluh empat) bakteri menunjukkan sebagai katalase negatif (katalase-) berarti tidak menghasilkan gas setelah diberi  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Hal ini sesuai dengan yang telah dilaporkan oleh Madigan *et al.*, (2009) bahwa BAL memiliki sifat sebagai katalase -. Hal ini diperkuat juga oleh hasil penelitian Taheri *et al.*, (2009), bahwa BAL tergolong dalam bakteri katalase -.

Hasil uji produksi asam laktat, diperoleh hasil 24 (dua puluh empat) bakteri mampu memproduksi asam laktat. Hal ini sesuai dengan Madigan *et al.*, (2009), bahwa bakteri *Lactobacillus sp* merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat. Dilaporkan oleh Madigan *et al.*, (2009), bahwa bakteri asam laktat bersifat homofermentatif artinya dari fermentasi senyawa glukosa hanya dihasilkan asam laktat. Dijelaskan oleh Sharpe & Holt (1984), untuk menyakinkan dan mengkarakterisasi bahwa genus bakteri adalah golongan BAL, maka hal yang perlu dilakukan adalah uji produksi asam laktat.

Berdasarkan hasil identifikasi bentuk koloni, *hallow zone*, sifat pengecatan Gram, bentuk sel, uji katalase dari hasil analisis dan interpretasi data di atas bahwa isolat BAL adalah bakteri asam laktat genus *Lactobacillus sp.* Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Krieg & Holt, 1984). Berdasarkan hasil uji karakterisasi dari berbagai uji biokimiawi dalam rangka karakterisasi bakteri memiliki bentuk koloni bulat, warna putih dan tidak teratur, dan membentuk *hallow zone*. Morfologi berbentuk batang atau basil, tercatat Gram+ dan tidak berspora. Bersifat homofermentatif, dan tidak memproduksi gas dari glukosa. Berdasarkan karakter-karakter tersebut, maka bakteri yang telah diisolasi dari usus halus ayam kampung tersebut tergolong genus *Lactobacillus sp.* Hal ini sesuai dengan yang telah dilaporkan oleh Sharpe *et al.*, (1994) bahwa pada umumnya kelompok bakteri genus *Lactobacillus sp.* memiliki karakter sebagai Gram+, berbentuk kokus (tetrad), katalase-, tidak berspora, nonmotil, fakultatif anaerob, dan tidak memproduksi gas dari glukosa. Diperkuat oleh Sneath *et al.*, (1986), bahwa *Lactobacillus sp.* memiliki sifat *microaerophillic*, katalase- (negative), berbentuk batang (*rods*), Gram+ (positif), koloni berbentuk konveks, halus, mampu memfermentasi karbohidrat, menghasilkan bakteriosin. Menurut Coulibaly Ibourahema *et al.*, (2008), bahwa BAL merupakan bakteri gram+ (Gram positif), berbentuk batang atau kokus, bersifat nonmotil, mampu memproduksi asam laktat. Nazef *et al.*, (2008) melaporkan bahwa

hasil isolasi BAL dari feses unggas dari kandang industry ternak termasuk golongan *Streptococcus* dan *Lactobacillus*.

Persyaratan bakteri sebagai kandidat probiotik antara lain bakteri tersebut harus mampu hidup pada suasana asam dan garam empedu. Isolat bakteri yang diperoleh dari isi usus halus ayam kampung menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut memiliki sifat tahan terhadap pH lambung (pH 3) dan toleran terhadap garam empedu (0,3%). Berdasarkan performans bakteri secara *in vitro* yakni resisten terhadap garam empedu dan toleran terhadap kondisi asam, maka dapat disimpulkan bahwa bakteri tersebut memenuhi persyaratan sebagai kandidat probiotik. Sifat toleran terhadap garam empedu dan adhesif pada usus memungkinkan *Lactobacillus sp.* dapat bertahan dan berkembang dengan baik di dalam usus ayam. Hatice Yavuzdurmaz (2007), menyatakan bahwa isolat bakteri yang diperoleh dari isi usus halus ayam kampung setelah melalui tahapan identifikasi dengan berbagai uji biokimiawi dan fisiologi, dan molekuler serta kemampuan sebagai probiotik menunjukkan bahwa isolate bakteri memiliki sifat tahan terhadap pH lambung (pH 3) dan toleran terhadap garam empedu (0,3%). Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian Coulibaly Ibourahema *et al.*, (2008) bahwa step sekunsial isolasi bakteri BAL toleran terhadap suhu tinggi, pH rendah (asam), memproduksi asam laktat sebanyak 3-5% (w/v). Berdasarkan uji kemampuan ketahanan hidup terhadap suasana pH asam dan garam empedu maka memenuhi syarat sebagai kandidat probiotik. Hal ini membuktikan bahwa bakteri *Lactobacillus sp.* merupakan salah satu jenis mikroflora yang mampu hidup normal di dalam usus halus ayam kampung. Bakteri *Lactobacillus sp.* secara *in vivo* hidup menempel pada mukosa usus halus dan membentuk koloni bakteri yang memiliki peran penting dan spesifik. *Lactobacillus sp.* merupakan mikroflora normal dalam saluran pencernaan ayam dan tidak menimbulkan penyakit (pathogen). Dijelaskan oleh Madigan *et al.*, (2009), bahwa bakteri genus *Lactobacillus sp.* merupakan mikroflora normal dalam saluran pencernaan ayam terutama terdapat pada usus ayam atau unggas lainnya. Kolonisasi mikrobia bermula sejak hewan dilahirkan, tetapi perkembangan mikroflora intestinal dan barrier usus terjadi secara gradual (Erika Isolauri *et al.*, 2001). Kolonisasi bakteri merupakan implikasi dari kemampuan bakteri tersebut menempel pada permukaan sel epitel mukosa intestinal yang diperantarai oleh sifat hidrofobik alami dari permukaan luar bakteri tersebut (Gabriela Perdigón *et al.*, 2003). Menurut Fuler (1999) bahwa BAL termasuk mikroorganisme penghuni normal saluran pencernaan unggas. Kelompok bakteri asam laktat merupakan mikroflora normal dalam saluran pencernaan ayam terutama yang hidup dalam usus halus dan usus besar (Madigan *et al.*, 2009). Dilaporkan oleh Garriga *et al.*, (1998), bahwa *Lactobacillus sp.* dapat menempel pada mukosa usus halus membentuk koloni bakteri yang memiliki peran penting dan spesifik karena permukaan membran sel bakteri memiliki sifat hidrofobisitas terhadap lendir mukosa saluran pencernaan. Kolonisasi mikrobia bermula sejak hewan dilahirkan, tetapi perkembangan mikroflora intestinal dan barrier usus terjadi secara gradual (Erika Isolauri *et al.*, 2001). Dilaporkan oleh Erika Isolauri *et al.*, (2001), bahwa BAL dengan *toll like receptor* (TLR) meningkatkan absorpsi nutrisi secara optimal oleh permukaan usus ayam melalui mikrovili (*striated border*). Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Fuler *et al.*, (1999), bahwa penggunaan BAL memberikan berbagai manfaat terhadap hewan antara lain meningkatkan pertumbuhan, memberikan kekebalan alami (*innate*). Hal ini karena bakteri asam laktat mampu mengontrol mikroflora patogen dan juga memiliki kemampuan sebagai aktivator yang kuat untuk sistem imun alami karena mempunyai molekul yang spesifik pada dinding selnya. BAL juga memproduksi senyawa bakteriosin yang berfungsi sebagai anti bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri patogen sehingga bermanfaat bagi kesehatan ayam. Hal ini diperkuat oleh Diep *et al.*, (2009) yang menyatakan bahwa bakteri *Lactobacillus sp* selain memiliki sifat adhesif pada mukosa usus halus juga mampu menghasilkan bakteriosin yang berfungsi sebagai anti bakteri. Asa Ljungh & Torkel Wdastrom (2007), BAL pada umumnya menghasilkan senyawa mikrobiosidal yang berpengaruh menghambat pertumbuhan patogen di saluran pencernaan dan berkompetisi untuk berikatan dengan permukaan mukosa epitel usus.



## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil isolasi dan karakterisasi yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa bakteri yang berhasil diisolasi dari isi usus halus ayam kampung tersebut menunjukkan karakteristik bersifat Gram positif, katalase negatif, berbentuk batang (basil), maka bakteri hasil isolasi dari isi usus halus ayam kampung adalah jgenus *Lactobacillus sp.* Berdasarkan hasil uji pH asam dan garam empedu maka dapat disimpulkan bahwa isolate bakteri *Lactobacillus sp* tersebut memenuhi syarat sebagai kandidat probiotik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Albert Balows, Truper, HG, Martin Dworkin, Wim Harder, Karl-Heinz Schleifer. 1992. *The Prokaryotes*. 2<sup>nd</sup> ed. *A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications*. Vol II. New York: Springer-Verlag
- A.M. Amerah, A. Quiles, P. Medel, J. Sánchez, M.J. Lehtinen, and M.I. Gracia., (2013). *Effect of pelleting temperature and probiotic supplementation on growth performance and immune function of broilers fed maize/soy-based diets* (Chicken).
- Asa Ljungh 2007. Screening for Bacillus Isolates in the Broiler Gastrointestinal Tract. *Appl. and Env. Microbiol.* Vol. 71. No. 2. Pp.: 968-78.
- Collado, M.C., Erika Isolauri, Seppo Salminen, and Yolanda Sanz. (2009). *The Impact of Probiotic on Gut Health*.
- Coulibaly Ibourahema, Dauphin, R.B., Destain Jacqueline and Philippe Thonart., 2008. Characterization of Lactic Acid Bacteri Isolated from Poultry Farms in Sinegal. *African Journal of Biotechnology* Vol. 7. (12). Pp2006-12
- Diep, D.B., Mathiesen, G., V.G. H. Eijsink and I.F. Nes. 2009. *Use of Lactobacilli and their Pheromone-Based Regulatory Mechanism in Gene Expression and Drug Delivery*
- Erika Isolauri, Yelda Sütas, Pasi Kankaanpää, Heikki Arvilommi, and Seppo Salminen (1998). *Probiotics: effects on immunity*
- Fuller, R., 1999. Probiotics for farm animal. *Probiotics A Critical Review*. Wymondham, U.K: Horizon Scientific Press.
- Gabriela Perdigón, Roy Fuller, and Raúl Raya. (2001). *Lactic Acid Bacteria and their Effect on the Immune System”*.. Curr issues microbial
- Garriga, S. 1998. *Isolation, Identification and Exploration of Lactic Acid Bacteria from Human And Animal Microbia*. Departement of Applied Chemistry and Microbiology Division of Microbiology. Faculty of Agriculture and Forestry and Viiki Graduate School in Biosciences University of Helsinki Finlandia.
- Gabriela Perdigón, Mónica Locascio, Marta Medici, Aida Pesce De Ruiz Holgado, And Guillermo Oliver (2003). *Interaction of bifidobacteria with the gut and their influence in the immune function*.
- Hatice Yavuzdurmaz (2007) *Isolation, Characterization, Determination Of Probiotic Properties Of Lactic Acid Bacteria From Human Milk*

Heru Nurcahyo, Yoni Suryani, Anna Rakhmawati, Astuti, Evi Yulianti, Drajat Pramiadi, RM Abdul Adjid, and Risa Indirawati. (2011). *Chicken Rations Fortification With Lactic Acid Bacteria To Protect H5n1 Infection In Poultry*. FMIPA UNY

Ibourahema 2008

Krieg and Holt 1984 Bergey's manual

Madigan, M.Y., Martinko, J.M., Dunlap, P.V., and Clarek, D.P., (2009). *Biology of Microorganism*. 12<sup>th</sup> ed. New York: Benjamin Cummings.

Nazef, I., Belguesmia, A., Tani, H., Prevost, H., and Drider, D., 2008. Identification of LAB from poultry feces: Evidence on Anti-Campilobacter anf Anti-Listeria Activities

Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y., and Lee, Y. K. 1999. Probiotics: *How should they be defined Trends Food Sci. Technol.* 10: 107–110.

Salminen, S., A.V. Wright & A.C. Ouwehand (eds). *Lactic acid Bacteria, Microbiology and Functional Aspects*. Third Edition. Marcel Dekker, Inc. New York-Basel.

Sharpe, H.E., & J.G. Holt., 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol 1. Williams and Wilkins, Baltimore.

Sneath 1986

Steel and Torry 1993.

Suryani, Y., Astuti, Oktavia, B. dan Umniyati, S. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Kotoran Ayam sebagai Agensi Probiotik dan Enzim Kolesterol Reduktase. *dalam Prosiding Seminar Nasional Biologi 3 Juli 2010 'Biologi dan Pengembangan Profesi Pendidik Biologi'* ISBN : 978-602-97298-0-1. Yogyakarta: UNY. Halaman: 138-147.