

## **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Kandidat Probiotik pada Proventrikulus Ayam Petelur (*Gallus gallus domesticus*)**

F. Tanadda\*, dan A.E.T.H. Wahyuni

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55223

\*Email: ftanadda@mail.ugm.ac.id

### **ABSTRAK**

Perfonna dan produktivitas telur dapat dipengamhi secara langsung oleh keseimbangan bakteri pada saluran pencernaan ayam petelur. Probiotik dapat bermanfaat dalam memperbaiki keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bakteri pada organ proventrikulus yang terdapat dalam saluran pencernaan ayam petelur, yang dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik. Sebanyak lima ekor ayam petelur strain isa brown dengan umur dua puluh minggu digunakan dalam penelitian ini. Metode penelitian meliputi pengambilan sampel dari proventrikulus untuk diisolasi dan identifikasi bakteri melalui pengamatan morfologi koloni, morfologi sel, pengecatan Gram selta uji biokimia dan fisiologi meliputi fennentasi karbohidrat, motilitas, urease, dan NaCl. Hasil didapatkan tiga isolat Gram positif Dali tiga isolat Gram positif, hanya satu isolat yang memenuhi kandidat probiotik yaitu genus *Lactobacillus* sp. Kesimpulan dari penelitian ini diperoleh satu kandidat probiotik dari proventrikulus yaitu *Lactobacillus* sp.

Katakunci: proventrikulus, probiotik, *Lactobacillus*

### **ABSTRACT**

Isolation and Identification of Probiotic Candidate Bacteria in Proventriculus of Laying Hens (*Gallus gallus domesticus*). Egg performance and productivity can be directly influenced by the balance of bacteria in the digestive tract of laying hens. Probiotics can be useful in improving the microbial balance in the digestive tract. This research was conducted to determine the bacteria in the proventriculus organ found in the digestive tract of laying hens, which can be used as probiotic candidates. A total of five laying hens of the Isa Brown strain, twenty weeks old, were used in this research. Research methods include taking samples from the proventriculus for isolation and identification of bacteria through observing colony morphology, cell morphology, Gram staining as well as biochemical and physiological tests including carbohydrate fermentation, motility, urease, and NaCl. The results obtained were three Gram positive isolates. From the three Gram positive isolates, only one isolate met the probiotic candidate, namely the genus *Lactobacillus* sp. The conclusion from this study was that one probiotic candidate was obtained from the proventriculus, namely *Lactobacillus* sp.

Keywords: proventriculus, probiotic, *Lactobacillus*.

## **PENDAHULUAN**

Peternak ayam petelur banyak menggunakan pakan imbuhan untuk menunjang kualitas dan kuantitas telur yang diproduksi seiring dengan banyaknya permintaan pasar terhadap telur ayam. Telur merupakan bahan makanan asal temak yang bernilai gizi tinggi karena mengandung zat-zat makanan yang sangat dibutuhkan oleh tubuh manusia seperti protein, lemak, vitamin, dan mineral (Widoretno, dkk. 2018).

Antibiotic growth promotor (AGP) yang digunakan sebagai imbuhan pakan telah dilarang penggunaannya. Berdasarkan Undang Undang No. 18 2009 juncto UndangUndang No.41/2014 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan, pasal 22 ayat 4c yang menyatakan "Setiap orang dilarang menggunakan bahan pakan yang dicampur dengan hormone tertentu atau antibiotik sebagai suplemen". Penggunaan probiotik sebagai imbuhan pakan dapat dijadikan solusi atas larangan penggunaan antibiotic growth promotor (AGP) di Indonesia. Probiotik didefinisikan sebagai mikroba hidup yang digunakan sebagai pakan imbuhan dan dapat menguntungkan inangnya dengan meningkatkan keseimbangan mikrobial pencernaanya (Fuller, 1989).

Adaptasi ayam terhadap penibahan ransum atau ransum yang

tidak seimbang, transportasi, proses penetasan maupun kepadatan kandang yang tinggi dapat meningkatkan stres serta menurunkan fungsi kekebalan tubuh dan menjadi penyebab meningkatnya koloni bakteri pathogen. Probiotik dapat menjadi strategi untuk mengendalikan pertumbuhan koloni bakteri pathogen melalui mekanisme competitive exclusion (CE) dan memelihara kesehatan mikrobiota saluran pencernaan ayam (Yuanita, 2023). Bakteri agen probiotik mampu bertumbuh baik dalam kondisi lingkungan salinitas yang tinggi, memiliki kemampuan untuk adhesi ke sel mukosa intestinal dan bertahan dalam kondisi pH yang rendah (Hawati, 2011; Ludfiani, dkk., 2021).

Probiotik yang umum dipakai sebagai imbuhan pakan adalah berasal dari ayam broiler atau pedaging, maka perlu diketahui jenis probiotik dari organ pencernaan ayam petelur yang dapat digunakan sebagai imbuhan pakan untuk diberikan pada ayam petelur itu sendiri. Namun, sebelum itu perlu diketahui mikroba yang terdapat pada saluran pencernaan ayam petelur tersebut, terutama dalam penelitian ini adalah organ proventrikulus. Secara alami, di dalam organ pencernaan ayam, tennasuk proventrikulus, terdapat berbagai macam mikroba yang hidup, yaitu bakteri Gram positif maupun bakteri

Gram negatif. Maka dilakukan penelitian untuk mengetahui bakteri Gram positif yang terdapat dalam saluran pencernaan ayam petelur, salah satunya organ proventrikulus, yang dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik.

## **MATERI DAN METODE PENELITIAN**

### **Materi, Waktu dan tempat penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan September hingga Desember 2022 di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

### **Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah ose untuk menginokulasi bakteri, cawan petri, tabung reaksi untuk mereaksikan bahan, rak tabung untuk menata tabung reaksi, bunsen untuk pemanasan, gelas objek dan deck glass untuk menempatkan objek yang akan diamati di mikroskop, mikroskop cahaya untuk melihat morfologi bakteri, autoklaf untuk sterilisasi alat, anaerobic jar, inkubator, dan peralatan nekropsis seperti scalpel, pinset, gunting, nampan, dan alat tulis.

### **Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayam layer berumur dua puluh minggu sebanyak lima ekor, media de Man, Rogosa, dan Sharpe (MRS), agar NaCl, untuk uji gula-gula yaitu glukosa, sukrosa, galaktosa, trehalosa, mannitol, sorbitol, maltosa, laktosa, untuk pewarnaan gram yaitu Gram stains kit, agar urea untuk uji urease, dan agar motility untuk uji motilitas

### **Metode Pengambilan sampel**

Pengambilan sampel dilakukan pada ayam layer berumur dua puluh minggu. Sebanyak lima ekor ayam layer tersebut dilakukan nekropsis. Ayam disembelih dengan menggunakan pisau tajam pada leher bagian depan untuk memutus saluran makan (esophagus), saluran napas (trakea), dan dua urat lehernya (pembuluh darah di kanan dan kiri leher) (BSN, 2016). Berdasarkan Rawendra dan Waluyo (2016), terminasi ayam untuk nekropsis dilakukan melalui dislokasi persendian I eher cervicalis) bagian belakang kepala atau melalui eksanguinasi (penyayatan) pembuluh darah besar seperti vena dan arteri jugularis. Dislokasi cervicalis dilakukan dengan melepaskan persendian leher bagian belakang kepala dan menggantung sumsum tulang belakang tanpa merusak trakea dan esophagus serta menyuntikkan udara ke dalam rongga otak. Tahapan

dilanjutkan membuka bagian abdomen untuk mengekspos organ. Menurut Rawendra dan Waluyo (2016), caranya yaitu dengan meletakkan ayam menghadap ke atas atau terlentang di atas meja nekropsi, sayat kulit pada bagian medial tubuh mulai dari belakang sternum sampai ke bagian leher. Kulit kemudian dilepaskan ke dua Sisi tubuh dan dislokasi kedua kaki agar ayam terlentang mendatar. Sayat otot bagian posterior sternum dan masukkan gunting ujung tumpul ke dalam cavum abdominalis untuk memotong otot hingga bagian tengah tulang rusuk pada kedua sisi, lepaskan dada ayam untuk membuka organ visceral. Tahapan selanjutnya mencaril organ proventrikulus dan melakukan sedikit sayatan dan memasukkan ose ke dalam proventrikulus. Setiap ayam dilakukan swab pada organ provenrikulus kemudian dikultur pada media MRS.

### **Menanam bakteri**

Swab dilakukan setelah ayam dinekropsi, pada organ menggunakan ose. Bakteri ditanam pada media MRS dengan cara streak. Caranya dimulai dari ose yang steril dicelup dalam bakteri, lalu digoreskan pada cawan agar, goreskan bakteri dari area pertama ke area kedua. Goreskan bakteri dari area kedua ke area ketiga, lalu goreskan dari area

ketiga ke area keempat (Pommerville, 2007). Plate kemudian diinkubasi dalam suhu 37oc secara anaerob. Koloni bakteri yang tumbuh dilihat setelah 24 jam dan dibedakan berdasarkan morfologi koloni yang dominan. Koloni bakteri A yaitu koloni bakteri berwarna putih kompak, sedangkan koloni bakteri B yaitu koloni bakteri berwarna putih kekuningan.

### **Pengecatan Gram.**

Pengecatan Gram dilakukan pada setiap isolat untuk mengetahui apakah bakteri yang tumbuh termasuk bakteri Gram positif maupun Gram negatif, sekaligus dapat melihat morfologi sel bakteri. Pengecatan menggunakan Gram Stain Kit. Berdasarkan Hadioetomo (1 993), pewarnaan Gram dilakukan dengan cara kaca objek diberi satu tetes NaCl fisiologis. Diambil isolat bakteri menggunakan ose secara aseptis, kemudian dioleskan pada NaCl yang sudah ditetaskan tadi. Dilewatkan diatas nyala api bunsen untuk fiksasi. Isolat bakteri kemudian di tetesi ungu violet dan dibiarkan selama dua menit, selanjutnya dicuci dengan air. Isolat bakteri kemudian di teteskan iodine dan ditunggu selama satu menit, setelah itu dibilas dengan air mengalir. Isolat bakteri selanjutnya ditetesi dengan alkohol selama satu menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Terakhir yaitu

ditetesi safranin selama dua menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Slide dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop.

### **Uji Fermentasi Karbohidrat**

Pengujian gula-gula dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang mampu memfermentasi karbohidrat. Gula-gula yang digunakan untuk uji biokemis yaitu glukosa, sukrosa, galaktosa, trehalosa, mannitol, sorbitol, maltosa, dan laktosa. Media tersebut berbentuk cair yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi kecil. Isolat bakteri tersebut diinokulasikan menggunakan ose pada media gula-gula secara aseptis, kemudian diinkubasi pada suhu 37oc selama 24 jam menggunakan anaerobic jar. Uji gula-gula bersifat positif apabila terlihat perubahan warna menjadi kekuningan dan negatif apabila warnanya tetap merah (Lay, 1994).

### **Uji Nacl.**

Uji NaCl dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri untuk tumbuh pada media dengan salinitas tinggi. Isolat bakteri diinokulasikan pada media NaCl 6,69/0 dan NaCl 18% menggunakan ose secara aseptis, kemudian diinkubasi pada suhu 37o c selama 24 jam. Interpretasi positif ditandai dengan adanya pertumbuhan koloni bakteri (Mudawaroch dkk. 2020).

### **Uji Urease**

Agar urea diformulasikan untuk diferensiasi organisme urease positif cepat, urease positif lambat dan urease negatif. Agar urea mengandung urea, pepton, potassium phosphate, glukosa, phenol red, dan agar (Leboffe & Pierce, 2011). Agar urea digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam memproduksi urease. Satu usa biakan bakteri ditanam ke agar urea dengan menggunakan metode goresan zig-zag. Media diinkubasi pada suhu 37 oc selama 18-24 jam(Tille, 2022).

### **Uji Motilitas**

Media berbentuk agar semisolid yang dimasukkan dalam tabung reaksi (Leboffe & Pierce, 2011). Biakan bakteri dari media MRS agar diambil menggunakan usa bermata lurus, kemudian ditusukkan lurus ke dalam media semisolid hingga sepertiga basal tabung. Media diinkubasi pada suhu 370C selama 18-24 jam (Tille, 2022).

### **Uji Kemampuan Tumbuh pada Suhu Berbeda**

Dilakukan uji untuk melihat kemampuan biakan bakteri yang bertumbuh dalam beberapa suhu. Isolat diinokulasikan pada media MRS dan ditumbuhkan pada suhu yang berbeda yaitu pada suhu 100C

370 C dan 45 0 C (Mudawaroch dkk., 2020)

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini menggunakan sampel dari ayam petelur sehat yang berumur dua puluh minggu sebanyak lima ekor. Isolasi bakteri kandidat probiotik diperoleh dari organ proventrikulus. Isolasi ini menggunakan media de Man Rogosa Sharpe (MRS), karena medium ini merupakan medium selektif untuk isolasi bakteri asam laktat (Oxoid, 1982). Lima sampel yang diperoleh dari masing-masing organ proventrikulus, teramati dua jenis koloni bakteri. Koloni A yaitu koloni bemarna putih kompak berbentuk bulat dan B yaitu koloni berwarna putih kekuningan berbentuk bulat. Hasil pengamatan morfologi koloni pada proventrikulus ayam petelur sehat disajikan dalam Tabel 1.

Dua koloni yang didapat dari masing-masing sampel organ proventrikulus kemudian dilakukan pengecatan Gram. Pengecatan Gram dilakukan untuk melihat morfologi sel dan membedakan bakteri Gram positif ataupun Gram negatif. Hasil pengecatan Gram dan morfologi sel bakteri pada organ proventrikulus ayam petelur juga dapat dilihat dalam Tabel 1

Data hasil isolasi dan identifikasi bakteri menunjukkan bahwa dari lima organ proventrikulus ayam petelur, terdapat tiga isolat

ayam yang teridentifikasi Gram positif, yaitu ayam 1 dari koloni bakteri A memiliki morfologi sel kokus atau bulat, ayam 2 dari koloni bakteri B memiliki morfologi sel basil atau batang, dan ayam 3 dari koloni bakteri B memiliki morfologi sel basil atau batang.

Berdasarkan Tabel 1 tersebut, diperkuat oleh Surono (2004), bahwa variasi karakteristik bakteri normal / biasa terjadi, namun yang mutlak adalah sifatnya sebagai bakteri Gram positif. Selanjutnya dijelaskan bahwa bakteri asam laktat yang berbentuk batang tergolong *Lactobacillus* dan yang berbentuk kokus tergolong *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, dan *Pediococcus*.

Isolat bakteri pada Ayam IA, Ayam 2B, dan Ayam 3B dilakukan uji gula-gula. Uji fermentasi karbohidrat bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasi karbohidrat tertentu yang tergabung dalam media basal, menghasilkan asam atau asam dengan gas yang terlihat (Parija, 2016). Hasil uji gulagula terhadap isolat bakteri tersebut disajikan dalam Tabel 2.

Melalui uji gula-gula didapatkan hasil pada ayam IA menunjukkan hasil positif pada uji glukosa, sukrosa, galaktosa, mannitol, sorbitol, maltose, dan laktosa, namun menunjukkan hasil

negatif pada trehalosa. Ayam 2B menunjukkan hasil positif pada uji glukosa, mannitol, sorbitol, dan maltosa, sedangkan pada sukrosa, galaktosa, trehalosa, dan laktosa menunjukkan hasil negatif Ayam 3B

dengan uji gula menunjukkan hasil positif pada semua gula yaitu glukosa, sukrosa, galaktosa, trehalosa, mannitol, sorbitol, maltosa, dan laktosa.

Tabel 1. Hasil pengamatan morfologi koloni pada proventrikulus ayam petelur

| Uji       | Ayam 1A | Ayam 2B | Ayam 3B |
|-----------|---------|---------|---------|
| Glukosa   | +       | +       | +       |
| Sukrosa   | +       | +       | +       |
| Galaktosa | +       | -       | +       |
| Trehalosa | -       | -       | +       |
| Mannitol  | +       | +       | +       |
| Sorbitol  | +       | +       | +       |

Tabel 2. Hasil uji gula-gula terhadap tiga isolat bakteri Gram Positif.

| Uji     | Ayam 1A | Ayam 2B | Ayam 3B |
|---------|---------|---------|---------|
| Maltose | +       | +       | +       |
| Laktosa | +       | -       | +       |

Hasil uji gula-gula pada Ayam 3B sesuai dengan penelitian Manin (2010) bahwa pada uji galaktosa, glukosa, laktosa, maltose, mannitol, sorbitol, dan sukrosa menunjukkan hasil positif dan bakteri tersebut merupakan bakteri

*Lactobacil/us*. Pada penelitian Utama, dkk. (2018) juga menunjukkan bahwa bakteri *Lactobacil/us* menunjukkan hasil positif pada uji galaktosa, glukosa, mannitol, sorbitol, maltose, laktosa, sukrosa, dan trehalosa.

Uji lanjutan dilakukan setelah uji gula-gula untuk isolat bakteri dari Ayam IA, Ayam 2B, dan Ayam 3B tersebut. Uji yang dilakukan yaitu uji Nac1 Nac1 18%, uji urease, uji motilitas, dan inkubasi pada suhu 100 c, 370C, dan 450 C. Hasil uji dapat dilihat dalam Tabel 3. Ayam 1A menunjukkan hasil positif pada

menunjukkan hasil negatif Ayam 38 Pada uji NaCl 6,69/0 menunjukkan hasil positif sedangkan NaCl 18% menunjukkan hasil negatif.

Berdasarkan Vinderola, dkk. (2019), bakteri dari genus *Lactobacillus* pada NaCl 6,5% bersifat variable dan pada NaCl 18% hasilnya negatif yang berarti bakteri tidak dapat tumbuh. Pada penelitian yang dilakukan hasilnya sesuai dengan Vinderola, dkk. (2019) karena hasil uji NaCl 18% bakteri tidak tumbuh pada ketiga isolat, sedangkan pada NaCl 6,6 0/0 tidak dapat dipastikan.

Uji gula-gula dan uji NaCl 6,6% dan 18% telah dilakukan, selanjutnya tiga isolat tersebut dilakukan uji urease dan uji motilitas. Uji urease digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam memproduksi urease.

| Koloni | Bentuk | Gram | Morfologi |
|--------|--------|------|-----------|
|        | Bulat  |      | Kokus     |
| Ayam 1 | Bulat  |      | Basil     |
|        | Bulat  |      | Kokus     |
| Ayam 2 | Bulat  |      | Basil     |
|        | Bulat  |      | Basil     |
| Ayam 3 | Bulat  |      | Basil     |
|        | Bulat  |      | Basil     |
| Ayam 4 | Bulat  |      | Basil     |
|        | Bulat  |      | Kokus     |
| Ayam 5 | Bulat  |      | Kokus     |

Tabel 3. Hasil uji lanjutan terhadap tiga isolat bakteri Gram positif

| Isolat    | NaC:<br>6,6% | NaCl<br>18% | Urease    | Motilit<br>as | 10 <sup>0</sup> C | 37 <sup>0</sup> C | 45 <sup>0</sup><br>C |
|-----------|--------------|-------------|-----------|---------------|-------------------|-------------------|----------------------|
| Ayam IA   | +            | -           | Oranye    | -             | -                 | +                 | -                    |
| Ayam 2B   | -            | -           | Pink muda | +             | -                 | +                 | +                    |
| Ayayam 3C | +            | -           | Kuning    | -             | -                 | +                 | +                    |

Tabel 4. Dugaan bakteri pada isolat Gram positif

| Uji               | Isolate Ayam IA         | Isolat Ayam 2B | Isolat Ayam 3B |
|-------------------|-------------------------|----------------|----------------|
| Bentuk            | Kokus                   | Basil          | Basil          |
| 0 <sup>0</sup> C  | -                       | -              | -              |
| 37 <sup>0</sup> C | +                       | +              | +              |
| 45 <sup>0</sup> C | -                       | +              | +              |
| NaCl 6,6%         | +                       | -              | +              |
| NaCl 18%          | -                       | -              | -              |
| Motilitas         | -                       | +              | -              |
| Dugaan bakteri    | Pediococcus Leuconostoc | Non BAL        | Lactobacillus  |

Uji NaCl 6,6%, sedangkan pada NaCl 18% hasil negatif. Ayam 2B pada uji NaCl dan NaCl pada 37°C selama 18-24 jam (Tille, 2022). Hasil yang didapatkan pada uji urease yaitu pada isolat ayam IA media berwarna oranye. Isolat Ayam 2B pada uji urease menunjukkan perubahan pada media yang berubah warna menjadi pink muda. Isolat Ayam 3B menunjukkan perubahan warna media, yaitu media berwarna kuning biakan bakteri ditanam ke agar urea dengan menggunakan metode goresan zigzag, kemudian diinkubasi. Menurut Leboffe dan Pierce (2011), uji urease bertujuan untuk diferensiasi organisme berdasarkan kemampuan untuk menghidrolisis urea dengan enzim urease. Jika dalam 24 jam media agar urea berubah warna menjadi pink seluruh bagian, artinya dapat menghidrolisis urea dengan cepat, produksi urease kuat. Jika dalam 24 jam berwarna pink sebagian, artinya menghidrolisis urea secara lambat, produksi urea lemah. Jika dalam 24 jam berwarna oranye atau kuning dan hingga 6 hari berubah menjadi pink sebagian, artinya hidrolisis urea secara lambat, produksi urea lemah. Jika dalam 24 jam berwarna oranye atau kuning dan hingga hari ke-6 tidak berubah warna lagi, artinya tidak menghidrolisis urea dan tidak memproduksi urease. Maka pada

ayam IA dan 3B dapat diinterpretasikan bahwa bakteri menghidrolisis urea secara lambat atau tidak menghidrolisis urea. Pada ayam 2B dapat diinterpretasikan bahwa bakteri tersebut menghidrolisis urea secara lambat dan produksi urea lemah.

Pada uji motilitas, ayam IA menunjukkan hasil negatif yang berarti bakteri tersebut non-motil. Ayam 2B menunjukkan hasil positif yang artinya bakteri tersebut motil. Pada uji motilitas, ayam 3B menunjukkan hasil negatif yang berarti bakteri tersebut non-motil. Hal tersebut berdasarkan Leboffe dan Pierce (2011) bahwa uji motilitas digunakan untuk mendeteksi apakah bakteri tersebut bersifat motil (bergerak) atau tidak. Uji motilitas menggunakan media agar semisolid. Hasil uji positif bila bakteri menyebar pada media. Hasil uji negatif apabila bakteri hanya tumbuh pada bekas tusukan. Menurut Holt et al. (1994), bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* memiliki karakteristik Gram positif dan bersifat non motil. Sehingga pada Ayam 2B bukan termasuk bakteri *Lactobacillus* dan tidak dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik.

Biakan bakteri Ayam IA, Ayam 2B, dan Ayam 3C dilakukan inkubasi pada suhu yang berbeda untuk melihat kemampuan

pertumbuhannya. Inkubasi dilakukan pada suhu 100 C, 370C, dan 450C. Pertumbuhan bakteri dari tiga isolat pada media MRS yang diinkubasi pada suhu IOO C tidak ada bakteri yang mampu bertumbuh. Pada suhu 370 C ketiga isolat bakteri dapat tumbuh. Pada suhu 45 0C setelah diamati hasil pada ayam IA tidak terdapat pertumbuhan bakteri, hasil pada ayam 2B dan ayam 3B bakteri bertumbuh. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri asam laktat adalah 300C sampai 400C. Namun, genus *Lactobacillus* dapat tumbuh pada suhu yang beragam antara 20C hingga 530 C (Slizewska & ChlebiczWojcik, 2020).

Hasil setelah dilakukan isolasi, pengecatan Gram, pengamatan morfologi, dan serangkaian uji, telah didapatkan dapat diamati. Isolat bakteri Ayam IA diduga termasuk bakteri *Pediococcus* atau *Leuconostoc*, berdasarkan Vinderolla, dkk. (2019). Isolate Ayam 2B diduga bukan dari Bakteri Asam Laktat karena bersifat motil. Ketiga isolat bakteri, yang dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik yaitu isolat bakteri Ayam 3B. Bakteri yang ditemukan pada Ayam 3 dengan koloni bakteri B diduga dari genus *Lactobacillus* karena memenuhi kriteria mampu memfermentasi karbohidrat, tumbuh pada salinitas tinggi, pewarnaan

Gram positif, nonmotil, dan sel berbentuk batang. Dugaan ini berdasarkan Holt, dkk., (1994) yang menyatakan bahwa *Lactobacillus* sp. merupakan bakteri Gram positif dengan bentukan morfologi sel batang atau kokobasil, bersifat non motil, fakultatif anaerob atau mikroaerofilik. Bakteri yang mendekati genus ini mempunyai ciri-ciri morfologi yaitu warna koloni krem, bentuk koloni bulat. Hasil dugaan bakteri pada ketiga isolat dapat dilihat dalam Tabel 4.

*Lactobacillus* merupakan salah satu genus bakteri asam laktat yang paling banyak dijumpai pada saluran pencernaan sekitar 70% dari populasi bakteri (Yuanita, 2023). *Lactobacillus* adalah mikroflora normal saluran pencernaan, memiliki pengaruh pada inang hewan. Menurut (Dworkin, dkk., 2006), flora usus mempengaruhi kesehatan inang, termasuk nutrisi, fungsi fisiologis, khasiat obat, karsinogenesis, penuaan serta respon imunologi inang, resistensi terhadap infeksi, dan respon terhadap endotoksin dan berbagai tekanan lainnya. Mikroflora asli dapat menghambat pembentukan mikroorganisme patogen dengan mempengaruhi peristaltik usus. Bakteri probiotik memiliki peranan pada inangnya. Probiotik dapat

menjadi strategi untuk mengendalikan pertumbuhan koloni bakteri pathogen melalui mekanisme competitive exc/usion (CE) dan memelihara kesehatan microbiota saluran pencernaan ayam (Yuanita, 2023).

## **KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan dapat disimpulkan bahwa dari ketiga isolat ayam Gram positif didapatkan satu isolat yang dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik, bakteri yang ditemukan yaitu *Lactobacillus* sp.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- BSN. (2016). SNI 99002 Pemotongan Halal pada Unggas. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E. Schleifer, K. Stackebrant, E. (2006). *The Prokaryotes Third Edition A Handbook on The Biology of Bacteria: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria.* New York: Springer.
- Fadilah, R., & Polana, A. (2011). *Mengatasi 71 Penyakit Pada Ayam.* Jakarta: PT AgroMedia Pustaka.
- Fuller, R. (1989). Probiotics in Man and Animals. *J. Appl Bacteriol*, 66, 365-378.
- Hadioetomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium.* Jakarta: Penerbit Gramedia
- Haryati, T. (2011). Probiotik dan Prebiotik sebagai Pakan Imbuhan Nonruminansia. *WARTAZOA*, 125-32.
- Holt, J. G. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* Baltimore: Williams and Wilkins.
- Lay, B. W. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium.* Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Leboffe, M. J., & Pierce, B. E. (2011). *A Photographic Atlas for The Microbiology Laboratory 4th Edition.* Colorado: Morton Publishing.
- Ludfiani, D. D., Asmara, W., Wahyuni, A. E., & Astuti, P. (2021). Identification of *Lactobacillus* spp. on Basis Morphological, Physiological, and Biochemical Characteristic from Jawa Super Chicken Excreta. *BIO Web of Conferences*, 06012.
- Manin, F. (2010). Potensi *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum* dari Saluran Pencernaan Ayam Buras. *Jurnal Ilmiah Ilmu Peternakan*, 221-228.
- Mudawaroch, R. E., Setiyono, Y. L., & Suryanto, E. (2020). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria on Broiler Chicken. *Elkawanie: Journal of Islamic Science and Technology*, 287-301.

- Oxoid. (1982). *The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients and Other Laboratory Services* 5th ed. Basingstoke
- Parija, S. C. (2016). *Textbook of Microbiology and Immunology* 4th ed. Singapore: Springer
- Pommerville, J. C. (2007). *Alcamo's Laboratory Fundamentals of Microbiology* Sudbury: Jones and Bartlett Publisher
- Putra, R. W., & Fevria, R. (2018). Isolation and Identification of Probiotic Candidate Lactic Acid Bacteria (LAB) from Shrimp Paste (*Mysis relicta*) Based on 16S rRNA Gene. *Bioscience*, 64-71.
- Rawendra, R., & Waluyo, S. T. (2016). *Penyakit Unggas*. Malang: Media Nusa Creative.
- Slizewska, K., & Chlebicz-Wojcik, A. (2020). Growth Kinetics of Probiotic *Lactobacillus* Strains in The Alternative, CostEfficient Semi-Solid Fermentation Medium. *Biology (Basel)*, 423.
- Surono, I. S. (2004). *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta: Tri Cipta Karya.
- Syuen, L. G. (2023). *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Kandidat Probiotik pada Usus Halus Ayam Petelur (Gallus gal/us domesticus)*. (Skripsi Sarjana, Universitas Gadjah Mada)
- Tille, P. M. (2022). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. Missouri: Elsevier.
- Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2009 Juncto Undang-Undang Not-nor 41 Tahun 2014 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan, pasal 22 ayat 4c.
- Utama, C. S., Zuprizal, Hanim, C. , & Wihandoyo. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Selulolitik yang Berasal dari Jus Kubis Terfermentasi. *Jurna/ Aplikasi Tekno/ogi Pangan*, 1-6.
- Vinderola, G. , Ouwehand, A. C., Salminen, S. , & Wright, A. (2019). *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*. Boca Raton: CRC Press.
- Widoretno, H. H., Utami, I. A., & Bidura, I. G. (2018). Pengaruh pemberian ekstrak air daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) melalui air minum terhadap produksi telur ayam lohman brown umur 22-30 minggu. *Journal of Tropical Animal Science*, 335-349.
- Yuanita, I. (2023). *Peran Kombinasi Umbi Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia) dan Probiotik Lactobacillus acidophilus Sebagai Pakan Aditif Ayam Broiler*. Ponorogo: Uwais Inspirasi Indonesia.