

Bioprospecting Bakteri Asam Laktat Berpotensi Probiotik dari Usus Ayam Buras (*Gallus domesticus*) pada Ekosistem Tempat Pembuangan Akhir Antang

(Bioprospecting of Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria from the Gut of Native Chickens (*Gallus domesticus*) in the Antang Landfill Ecosystem)

Khaerunnisa^{1*}, Zaraswati Dwyana², Sulfahri³

^{1*2,3} Dept Biologi, FMIPA, Universitas Hasanuddin, Indonesia

ARTICLE INFO

Article history:

Received May 1, 2024;

Revision in revised from July 12, 2024;

Accepted September 10, 2024;

Available Online September 30, 2024.

KEYWORDS :

Lactic acid bacteria;

Probiotics;

Native chickens;

Encapsulation;

Landfill.

ABSTRACT

The use of antibiotics as antibiotic growth promoters (AGPs) in the poultry industry has raised concerns due to increasing bacterial resistance and the potential presence of antibiotic residues in animal products. Consequently, probiotics have been widely explored as a safer alternative to improve livestock health and productivity. Lactic acid bacteria (LAB) are among the most commonly used probiotic microorganisms because they can maintain intestinal microbial balance and produce antimicrobial compounds that inhibit pathogenic bacteria. However, information regarding LAB derived from the intestines of native chickens inhabiting unique ecosystems such as landfill sites remains limited. This study aimed to bioprospect potential probiotic LAB from the intestines of native chickens (*Gallus domesticus*) living in the Antang landfill ecosystem and evaluate their application in broiler chickens. LAB were isolated using MRSA medium enriched with CaCO₃, followed by morphological identification, Gram staining, and probiotic characterization through acid tolerance, bile salt tolerance, and antagonistic activity tests against *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. Eight LAB isolates were obtained, of which five showed promising probiotic potential. The best isolate demonstrated strong antibacterial activity and improved body weight gain and feed efficiency in broiler chickens.



Copyright (c) 2024 @author(s).

1. PENDAHULUAN

Ayam broiler merupakan salah satu komoditas unggas yang banyak dikonsumsi masyarakat sebagai sumber protein hewani. Pemeliharaan ayam broiler memiliki masa panen yang relatif cepat sehingga mampu menjamin

ketersediaan daging serta memenuhi kebutuhan gizi masyarakat. Pertumbuhan ayam broiler berlangsung sangat cepat dan dalam waktu relatif singkat, yaitu sekitar 4-5 minggu sudah dapat dipasarkan atau dikonsumsi (Murtidjo, 2002). Namun demikian,

dalam sistem produksi unggas intensif, kesehatan ternak sering kali dijaga melalui penggunaan antibiotik atau Antibiotic Growth Promoters (AGPs). Penggunaan antibiotik secara berlebihan pada unggas dapat menimbulkan residu pada produk ternak seperti daging dan telur. Residu antibiotik tersebut berpotensi memberikan dampak negatif terhadap kesehatan konsumen, salah satunya adalah meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Sumpana & Deasy, 2010). Oleh karena itu, penggunaan antibiotik dalam industri peternakan mulai mendapat perhatian serius karena berpotensi menimbulkan dampak ekologis dan kesehatan masyarakat.

Salah satu pendekatan yang banyak dikembangkan sebagai alternatif pengganti antibiotik adalah penggunaan probiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang apabila diberikan dalam jumlah yang cukup dapat memberikan manfaat bagi kesehatan inang dengan menyeimbangkan mikroflora usus dan meningkatkan sistem imun (Kabir, 2009; Brisbin et al., 2010; Cencic & Chingwaru, 2010; Das et al., 2012). Penggunaan probiotik pada ternak telah terbukti memberikan berbagai manfaat, antara lain menekan pertumbuhan bakteri patogen (Zhou et al., 2016), meningkatkan kekebalan tubuh hewan (Patel et al., 2015), membantu proses pencernaan melalui produksi enzim (Swiatkiewicz et al., 2014), serta menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat meningkatkan kesehatan inang (Miao et al., 2015). Selain itu, probiotik juga berfungsi sebagai penghalang alami terhadap infeksi mikroba (Angmo et al., 2016; Oh & Jung, 2015) dan telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai

produk pangan fermentasi (Bernardeau & Vernoux, 2013; Khedid et al., 2006).

Sebagian besar mikroorganisme probiotik berasal dari kelompok bakteri asam laktat (BAL), khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*, yang merupakan bagian dari mikroflora normal pada saluran pencernaan (Gueimonde & Collado, 2012). Bakteri asam laktat diketahui memiliki berbagai karakteristik penting sebagai probiotik, antara lain tahan terhadap kondisi asam lambung dan garam empedu, mampu menempel pada permukaan mukosa usus, serta menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat bakteri patogen (Simadibrata, 2010; Jadhav et al., 2015). Selain itu, bakteri probiotik juga dapat berperan dalam meningkatkan kesehatan melalui berbagai mekanisme seperti kompetisi nutrisi dengan bakteri patogen, produksi metabolit antimikroba, serta modulasi sistem imun inang (Rahayu, 2008; Collado et al., 2009). Aktivitas metabolik bakteri asam laktat juga diketahui dapat menurunkan kadar kolesterol melalui aktivitas enzim Bile Salt Hydrolase (BSH) (Sunarlim, 2009; Lee & Salminen, 2009).

Sumber mikroorganisme probiotik dapat berasal dari berbagai lingkungan, termasuk saluran pencernaan hewan. Saluran pencernaan merupakan sistem organ yang memiliki fungsi penting dalam proses pencernaan dan pertahanan tubuh (Sugiharto, 2014). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yang terdapat dalam saluran pencernaan unggas dapat diisolasi dan dimanfaatkan sebagai probiotik karena memiliki kemampuan beradaptasi dengan baik dalam sistem pencernaan unggas (Sutrisna, 2014; Brizuela, 2011; Garcia et al., 2012). Mikroorganisme yang dominan pada

saluran pencernaan ayam terutama berasal dari kelompok *Lactobacillus* yang menghasilkan asam laktat dan asam asetat sehingga menciptakan lingkungan yang tidak menguntungkan bagi mikroorganisme patogen (Sjofjan et al., 2003; Tensiska, 2008).

Ayam buras (*Gallus domesticus*) merupakan salah satu sumber potensial mikroorganisme probiotik. Ayam buras memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap berbagai kondisi lingkungan, tahan terhadap penyakit, serta mampu memanfaatkan berbagai sumber pakan dari lingkungan sekitar (Gunawan, 2002; Mulyono, 2004). Ayam kampung yang dipelihara secara lepas umumnya memiliki tingkat kekebalan tubuh yang lebih tinggi karena terbiasa berinteraksi dengan berbagai mikroorganisme di lingkungan sekitarnya (Kholid, 2011). Kondisi tersebut memungkinkan terbentuknya komunitas mikroba yang beragam dalam saluran pencernaan ayam, termasuk bakteri yang berpotensi sebagai probiotik (Sumardi, 2008; Julianti, 2016).

Salah satu lingkungan yang memiliki potensi tinggi sebagai sumber keanekaragaman mikroorganisme adalah kawasan Tempat Pembuangan Akhir (TPA). Di kawasan ini terdapat berbagai jenis limbah organik yang bercampur dengan limbah domestik sehingga membentuk lingkungan mikroba yang kompleks. Ayam buras yang hidup di sekitar TPA berinteraksi langsung dengan sumber makanan dari limbah organik sehingga kondisi tersebut dapat mempengaruhi komposisi mikroorganisme dalam saluran pencernaannya. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa isolat probiotik yang diperoleh dari ayam buras di TPA Antang memiliki

kemampuan bertahan pada kondisi pH rendah dan garam empedu serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* (Mardina, 2016). Hal ini menunjukkan bahwa ekosistem TPA berpotensi menjadi sumber eksplorasi mikroorganisme yang memiliki kemampuan probiotik.

Selain pemilihan sumber isolat, keberhasilan aplikasi probiotik juga dipengaruhi oleh stabilitas dan viabilitas mikroorganisme selama penyimpanan dan penggunaan. Salah satu teknologi yang digunakan untuk mempertahankan viabilitas probiotik adalah teknik enkapsulasi. Enkapsulasi merupakan proses pelapisan mikroorganisme menggunakan bahan pelindung tertentu sehingga dapat meningkatkan stabilitas dan ketahanan probiotik terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan seperti suhu dan pH lambung (Chandramouli et al., 2004; Widodo et al., 2003). Teknik ini juga dapat memperpanjang masa simpan dan meningkatkan efektivitas penggunaan probiotik (Krasaekoopt et al., 2003). Berbagai metode enkapsulasi telah dikembangkan dalam industri pangan untuk melindungi mikroorganisme selama proses pengolahan dan penyimpanan (Wu et al., 2000; Gibbs et al., 2009; Gbassi & Thierry, 2012; Vidyalakshmi et al., 2009). Penggunaan probiotik terenkapsulasi juga diketahui dapat meningkatkan daya cerna nutrisi dan efisiensi pakan pada unggas (Natsir, 2010).

Berdasarkan uraian tersebut, eksplorasi mikroorganisme dari lingkungan unik seperti Tempat Pembuangan Akhir (TPA) berpotensi menghasilkan isolat bakteri yang memiliki kemampuan probiotik. Namun

demikian, informasi mengenai potensi bakteri asam laktat dari usus ayam buras yang hidup di ekosistem TPA masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan bioprospecting bakteri asam laktat berpotensi probiotik dari usus ayam buras (*Gallus domesticus*) yang hidup di ekosistem Tempat Pembuangan Akhir Antang serta mengevaluasi potensi aplikasinya sebagai probiotik

2. BAHAN DAN METODE

Pengambilan sampel ayam buras (*Gallus domesticus*) dilakukan di kawasan Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Antang. Isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Proses pembuatan probiotik terenkapsulasi dilakukan di Laboratorium Biofarmaka Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Uji aplikasi probiotik terhadap performa ayam broiler dilakukan di kandang pemeliharaan yang berlokasi di Desa Pacellekang, Dusun Moncongloe, Kecamatan Patalassang, Kabupaten Gowa.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan gelas seperti erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, gelas objek, preparat, batang pengaduk, batang L, gelas ukur, dan gelas kimia. Selain itu digunakan pula peralatan non-gelas seperti pipet tetes, jarum ose, labu semprot, gegap, rak tabung reaksi, scalpel, mortar, pastel, dan bunsen. Peralatan instrumen yang digunakan meliputi enkas, inkubator, oven, timbangan digital, mikroskop, hot plate, lemari pendingin, dan autoklaf.

Penelitian ini juga menggunakan kandang ayam, bola lampu, wadah air minum dan pakan ayam, alat semprot, plastik steril, jangka sorong, timbangan, serta wadah plastik.

Bahan yang digunakan meliputi usus segar ayam buras (*Gallus domesticus*), air suling, alkohol 70%, medium selektif MRSA (Mann Rogosa Sharpe Agar) (OXOID), medium MRSB (Man Rogosa Sharpe Broth) (OXOID), medium NA (Nutrient Agar) (MERCK), larutan pewarna Gram (kristal violet, lugol, alkohol-aseton, dan safranin), NaCl fisiologis, HCl 0,1 N, garam empedu sintetik (ox bile), minyak emersi, kapas, paper disk, kertas lakmus, cling wrap, label, CaCO₃, aluminium foil, serta 20 ekor ayam broiler DOC strain SR 707, pakan komersial, dan pakan buatan.

Seluruh alat yang digunakan dalam penelitian terlebih dahulu disterilisasi. Peralatan berbahan gelas disterilkan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Sementara itu, peralatan logam disterilkan dengan cara dicuci menggunakan alkohol atau dipijarkan di atas api bunsen untuk mencegah kontaminasi mikroba selama proses penelitian (Collin et al., 2004).

Pembuatan Medium

Medium kultur yang digunakan dalam penelitian ini meliputi MRSA, MRSB, dan NA. Pembuatan medium dilakukan mengikuti metode yang dijelaskan oleh Bridson (1990). Medium MRSA dibuat dengan melarutkan 6,2 g MRSA dan CaCO₃ 1% ke dalam 100 mL air suling (pH 6,2), kemudian dipanaskan hingga homogen dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Medium MRSB dibuat dengan melarutkan 5,2 g MRSB ke dalam 100 mL

air suling (pH 6,2) dan disterilkan menggunakan autoklaf pada kondisi yang sama. Medium NA dibuat dengan melarutkan 2,3 g NA ke dalam 100 mL air suling (pH 7,3), dipanaskan hingga homogen, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

Pengambilan Sampel

Sampel ayam buras (*Gallus domesticus*) yang sehat diambil dari kawasan Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Antang. Ayam kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi mikroorganisme dari saluran pencernaannya. Bagian usus ayam diambil secara aseptis untuk selanjutnya digunakan sebagai sumber isolat bakteri probiotik.

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Usus ayam buras dibedah secara aseptis dan bagian usus yang masih utuh dipisahkan dari jaringan lain. Isi usus dibersihkan, kemudian bagian dinding dalam usus dikerok menggunakan scalpel steril. Sampel yang diperoleh dimasukkan ke dalam larutan NaCl fisiologis steril dan dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-6} . Sebanyak 1 mL suspensi dari masing-masing pengenceran diinokulasikan pada medium MRSA yang ditambahkan CaCO_3 1%. Media kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Koloni bakteri yang menunjukkan zona bening di sekitar koloni diidentifikasi sebagai kandidat bakteri asam laktat.

Pemurnian Isolat Bakteri

Koloni bakteri yang membentuk zona bening pada medium MRSA + CaCO_3 dipindahkan ke medium yang sama menggunakan metode gores

kuadran (quadrant streak) untuk memperoleh kultur murni. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Proses pemurnian dilakukan sebanyak dua kali untuk memastikan bahwa isolat yang diperoleh merupakan kultur murni. Morfologi koloni yang diamati meliputi bentuk koloni, tepi koloni, warna koloni, elevasi koloni, serta karakteristik bau.

Pengamatan Morfologi Bakteri

Karakterisasi morfologi sel bakteri dilakukan menggunakan teknik pewarnaan Gram. Preparat bakteri dibuat pada gelas objek, kemudian difiksasi. Selanjutnya dilakukan pewarnaan menggunakan kristal violet selama 60 detik, diikuti dengan larutan lugol selama 60 detik, kemudian didekolorisasi menggunakan alkohol-aseton, dan diwarnai ulang menggunakan safranin selama 60 detik. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop untuk menentukan karakteristik sel bakteri.

Uji Potensi Probiotik

Uji Ketahanan terhadap Asam

Ketahanan isolat terhadap kondisi asam diuji menggunakan medium MRSB yang ditambahkan HCl 0,1 N hingga mencapai pH 2,5-3 yang menyerupai kondisi lambung. Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium tersebut dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan bakteri pada medium menunjukkan bahwa isolat memiliki ketahanan terhadap kondisi asam (Djide & Wahyuddin, 2008).

Uji Ketahanan terhadap Garam Empedu

Ketahanan terhadap garam empedu diuji menggunakan medium

MRSB yang ditambahkan garam empedu sintetik dengan konsentrasi 1% dan 5%. Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium tersebut dan diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu 37°C. Ketahanan isolat ditentukan berdasarkan kemampuan pertumbuhan bakteri pada medium yang mengandung garam empedu (Djide & Wahyuddin, 2008).

Uji Aktivitas Antagonistik terhadap Bakteri Patogen

Uji daya hambat dilakukan terhadap bakteri patogen *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. Suspensi bakteri patogen diinokulasikan pada medium NA menggunakan metode tuang. Paper disk steril yang telah direndam dalam suspensi isolat probiotik selama 10 menit kemudian diletakkan di atas permukaan medium. Media diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C, dan diameter zona bening yang terbentuk di sekitar paper disk diukur menggunakan jangka sorong.

Enkapsulasi Bakteri Probiotik

Isolat bakteri dengan aktivitas probiotik terbaik diperbanyak pada medium MRS broth dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Kultur bakteri kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit untuk memperoleh biomassa sel.

Biomassa bakteri kemudian dicampurkan ke dalam larutan yang mengandung 2 g maltodekstrin dan 20 g susu skim dalam 100 mL larutan. Campuran dihomogenkan selama 30 menit dengan kecepatan 500 rpm. Suspensi kemudian dikeringkan menggunakan metode freeze drying untuk menghasilkan mikrokapsul probiotik. Jumlah koloni bakteri dihitung menggunakan metode plate count

sebelum dan sesudah proses enkapsulasi untuk mengetahui viabilitas bakteri.

Uji Viabilitas Probiotik Terenkapsulasi

Sebanyak 1 g kultur probiotik kering diencerkan hingga pengenceran 10^{-9} dan diinokulasikan pada medium MRS agar menggunakan metode tuang. Media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam untuk menghitung jumlah koloni bakteri hidup.

Uji Aplikasi Probiotik pada Ayam Broiler

Sebanyak 20 ekor ayam broiler DOC strain SR 707 digunakan dalam penelitian ini. Probiotik terenkapsulasi diberikan melalui pakan buatan dengan dosis sekitar 10^6 cfu per ekor ayam sesuai kebutuhan probiotik pada unggas (Surono, 2004). Ayam dipelihara selama 42 hari dengan pemberian pakan secara ad libitum.

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi penambahan berat badan ayam broiler setiap minggu, nilai konversi ransum, serta penampilan ayam broiler selama masa pemeliharaan.

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu: R0 = pakan komersial (kontrol positif) R1 = pakan buatan (kontrol negatif) R2 = pakan buatan + probiotik terenkapsulasi 1 g sekali pemberian R3 = pakan buatan + probiotik terenkapsulasi 0,5 g dua kali pemberian (pagi dan sore).

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA). Apabila hasil analisis menunjukkan perbedaan yang signifikan antar perlakuan, maka analisis dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 21

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Berpotensi Probiotik

Isolasi bakteri merupakan proses pemisahan mikroorganisme dari lingkungan alamnya untuk memperoleh kultur murni yang dapat dipelajari lebih lanjut. Pada penelitian ini, isolasi bakteri dilakukan terhadap mikroorganisme yang terdapat dalam saluran pencernaan ayam buras (*Gallus domesticus*) yang hidup di kawasan Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Antang. Lingkungan TPA yang kaya akan bahan organik dan limbah domestik memungkinkan terbentuknya komunitas mikroorganisme yang beragam, sehingga berpotensi menjadi sumber eksplorasi mikroba yang memiliki fungsi probiotik.

Isolasi bakteri dilakukan menggunakan medium MRSA (*Mann Rogosa Sharpe Agar*) yang ditambahkan CaCO_3 untuk memfasilitasi seleksi bakteri asam laktat. Usus ayam buras yang berasal dari kawasan TPA Antang dikerok secara aseptis kemudian dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-8} . Suspensi dari masing-masing pengenceran diinokulasikan pada medium MRSA + CaCO_3 dan diinkubasi selama 2×24 jam.

Hasil isolasi menunjukkan bahwa koloni bakteri dengan zona bening di

sekitarnya muncul pada pengenceran 10^{-6} dan 10^{-7} . Zona bening tersebut merupakan indikasi aktivitas bakteri asam laktat yang menghasilkan asam laktat selama proses inkubasi. Asam laktat yang dihasilkan bereaksi dengan CaCO_3 yang tidak larut dalam medium sehingga membentuk kalsium laktat dan menghasilkan zona transparan di sekitar koloni. Berdasarkan hasil isolasi diperoleh delapan isolat bakteri yang diberi kode A hingga H yang menunjukkan morfologi koloni yang berbeda.

Keberadaan zona bening pada medium MRSA + CaCO_3 menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh memiliki kemampuan menghasilkan asam organik yang merupakan salah satu karakteristik utama bakteri asam laktat. Kemampuan menghasilkan asam organik tersebut merupakan salah satu mekanisme penting dalam aktivitas antagonistik terhadap mikroorganisme patogen.

Pemurnian Isolat

Sebanyak delapan isolat bakteri asam laktat yang diperoleh kemudian dimurnikan menggunakan teknik *quadrant streak* pada medium MRSA untuk memperoleh kultur murni. Proses pemurnian dilakukan dua kali untuk memastikan bahwa koloni yang diperoleh tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme lain.

Hasil pengamatan morfologi (Tabel 1) koloni menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki bentuk koloni *circular*, namun menunjukkan variasi pada karakteristik permukaan koloni, warna, dan bau. Beberapa isolat menunjukkan morfologi yang serupa,

seperti isolat A dan E yang memiliki permukaan koloni *flat*, tepi *entire*, serta warna putih. Isolat B dan G memiliki karakteristik koloni *unbonate* dengan warna putih, sedangkan isolat lainnya menunjukkan variasi bentuk seperti *raised* dan *crateriform*.

Tabel 1. Morfologi Koloni Isolat Bakteri Asam Laktat

Isolat	Pengamatan Morfologi				
	Form	Elevation	Margin	Color	Odor
A	Circular	Flat	Entire	White	++
B	Circular	Unbonate	Entire	White	+++
C	Circular	Unbonate	Entire	Cream	++
D	Circular	Crateriform	Entire	Cream	+++
E	Circular	Flat	Entire	White	++
F	Circular	Unbonate	Serrate	Cream	+++
G	Circular	Unbonate	Entire	White	+++
H	Circular	Raised	Entire	White	++

Keterangan :

+ : Sedikit berbau

++ : Berbau

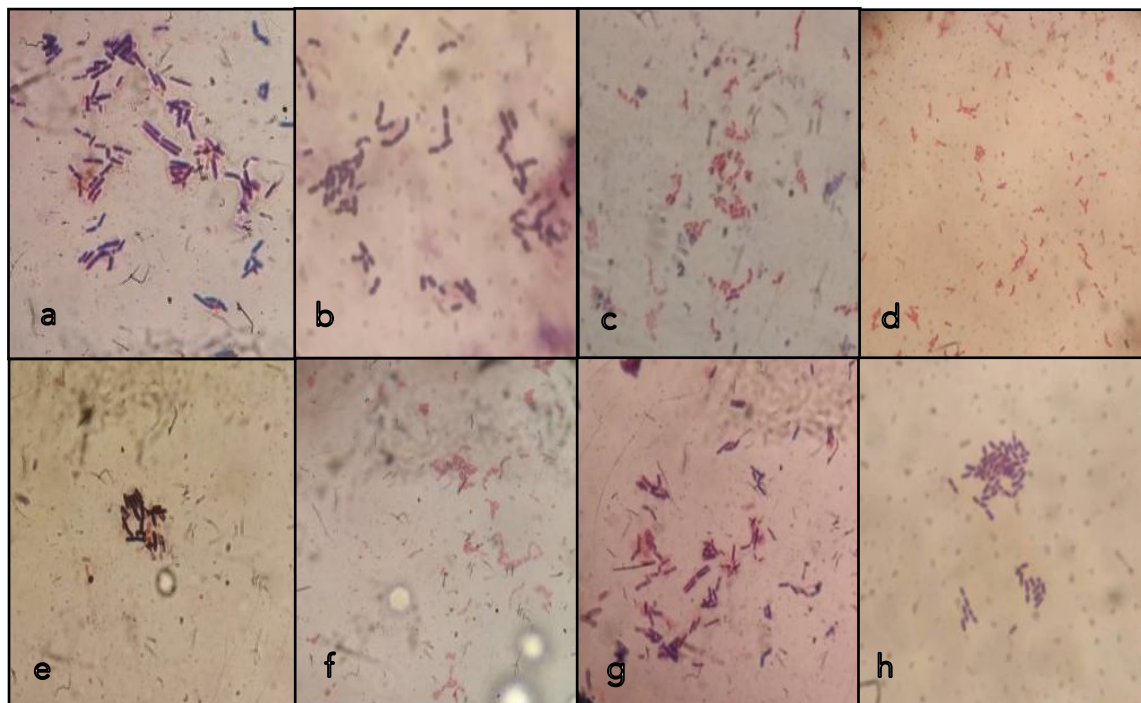
+++ : Sangat berbau

Variasi morfologi koloni tersebut menunjukkan adanya keragaman mikroorganisme yang berasal dari

saluran pencernaan ayam buras yang hidup di lingkungan TPA. Keragaman ini diduga berkaitan dengan variasi sumber pakan yang berasal dari limbah organik yang terdapat di lingkungan tersebut.

Karakterisasi Mikroskopis dan Pengecatan Gram

Karakterisasi mikroskopis dilakukan menggunakan teknik pengecatan Gram untuk mengetahui struktur dinding sel bakteri. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sebagian besar isolat merupakan bakteri Gram positif dengan bentuk basil panjang dan basil pendek, yaitu isolat A, B, E, G dan H. Sementara itu isolat C dan F berbentuk kokus Gram negatif dan isolat D berbentuk basil Gram negative (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil Pengecatan Gram Koloni Isolat BAL Pembesaran 100x10 kali

Perbedaan hasil pengecatan Gram tersebut disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal sehingga mampu mempertahankan zat warna kristal violet dan tampak berwarna ungu pada pengamatan mikroskopik. Sebaliknya, bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis sehingga zat warna utama mudah luntur saat proses pencucian dengan alkohol dan kemudian menyerap zat warna safranin sehingga tampak berwarna merah muda.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri yang berhasil diisolasi terdiri dari enam bakteri berbentuk basil dan dua bakteri berbentuk kokus. Variasi morfologi tersebut merupakan karakteristik yang umum ditemukan pada kelompok bakteri asam laktat. Menurut Miremedi et al. (2014), variasi morfologi bakteri asam laktat dapat terjadi secara alami, namun karakteristik utama yang harus dimiliki adalah sifat Gram positif. Bakteri asam laktat berbentuk batang umumnya termasuk dalam genus *Lactobacillus*, sedangkan yang berbentuk kokus dapat termasuk genus *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, dan *Pediococcus*.

Evaluasi Potensi Probiotik Isolat Bakteri

Ketahanan terhadap Asam Lambung

Salah satu kriteria utama bakteri probiotik adalah kemampuannya untuk bertahan dalam kondisi asam lambung. Oleh karena itu, isolat bakteri diuji ketahanannya terhadap kondisi asam

pada pH 3 yang menyerupai kondisi lambung.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu tumbuh pada medium dengan pH 3, namun dengan tingkat pertumbuhan yang berbeda. Isolat B, C dan D menunjukkan pertumbuhan paling baik yang ditandai dengan terbentuknya endapan bakteri yang banyak dan medium yang keruh setelah inkubasi. Sementara itu isolat A, E dan G menunjukkan pertumbuhan sedang, sedangkan isolat F dan H menunjukkan pertumbuhan yang relatif lebih rendah.

Kemampuan bakteri asam laktat untuk bertahan pada kondisi asam merupakan karakteristik penting bagi mikroorganisme probiotik. Menurut Abushelaibi et al. (2017), toleransi terhadap kondisi asam dan garam empedu merupakan sifat utama yang harus dimiliki oleh bakteri probiotik agar dapat bertahan selama melewati saluran pencernaan. Bakteri *Lactobacillus* diketahui mampu bertahan pada pH rendah karena memiliki mekanisme regulasi pH internal yang memungkinkan sel mempertahankan kondisi sitoplasma yang lebih stabil dibandingkan lingkungan eksternal (Lee et al., 2016).

Selain itu, ketahanan terhadap kondisi asam juga berkaitan dengan struktur membran sel bakteri yang mampu mencegah kebocoran komponen intraseluler ketika terpapar kondisi asam. Bakteri yang tidak memiliki ketahanan terhadap kondisi asam akan mengalami kerusakan membran sel yang dapat menyebabkan kematian sel (Neha, 2012). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa beberapa bakteri probiotik

seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* mampu bertahan pada kondisi asam karena menghasilkan asam organik dari metabolisme karbohidrat (Neha, 2012; Speranza et al., 2017).

Ketahanan terhadap Garam Empedu

Selain kondisi asam lambung, mikroorganisme probiotik juga harus mampu bertahan pada kondisi yang mengandung garam empedu di usus. Pada penelitian ini dilakukan pengujian ketahanan terhadap garam empedu dengan konsentrasi 1% dan 5%.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu bertahan pada medium yang mengandung garam empedu. Namun, isolat B, C dan D menunjukkan pertumbuhan paling baik yang ditandai dengan terbentuknya endapan bakteri yang banyak dan medium yang keruh.

Garam empedu merupakan senyawa amfipatik yang disintesis di hati dan disekresikan ke dalam lumen usus untuk membantu proses emulsifikasi lemak (Marks et al., 2012). Senyawa ini juga memiliki sifat seperti deterjen yang dapat merusak membran sel bakteri. Oleh karena itu, hanya bakteri yang memiliki ketahanan terhadap garam empedu yang mampu bertahan dalam saluran pencernaan.

Ketahanan bakteri terhadap garam empedu berkaitan dengan struktur dinding sel bakteri Gram positif yang mengandung polisakarida yang dapat melindungi sel dari kerusakan membran. Selain itu, beberapa bakteri *Lactobacillus* diketahui memiliki enzim *bile salt hydrolase* yang mampu menghidrolisis garam empedu sehingga

mengurangi efek toksiknya terhadap sel bakteri (Adawiyah et al., 2015; Sumbono, 2016).

Aktivitas Antagonistik terhadap Bakteri Patogen

Berdasarkan hasil uji ketahanan terhadap asam dan garam empedu, lima isolat dengan potensi terbaik yaitu isolat B, C, D, F dan G kemudian diuji aktivitas antagonistiknya terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa semua isolat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kedua bakteri patogen tersebut. Isolat B menunjukkan aktivitas antibakteri paling tinggi dengan diameter zona hambat sebesar 11 mm terhadap *E. coli* dan 14,5 mm terhadap *S. typhi* setelah inkubasi 2×24 jam.

Aktivitas antibakteri tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat mampu menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Perbedaan ukuran zona hambat antar isolat dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti laju pertumbuhan mikroorganisme, kemampuan difusi senyawa aktif dalam medium, serta struktur dinding sel bakteri target (Fauziah et al., 2015; Bhorgin, 2014).

Senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri probiotik umumnya berupa bakteriosin yang merupakan senyawa protein yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap mikroorganisme patogen (Fauziah et al., 2015). Senyawa ini berperan penting

dalam menjaga keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan.

Enkapsulasi dan Viabilitas Probiotik

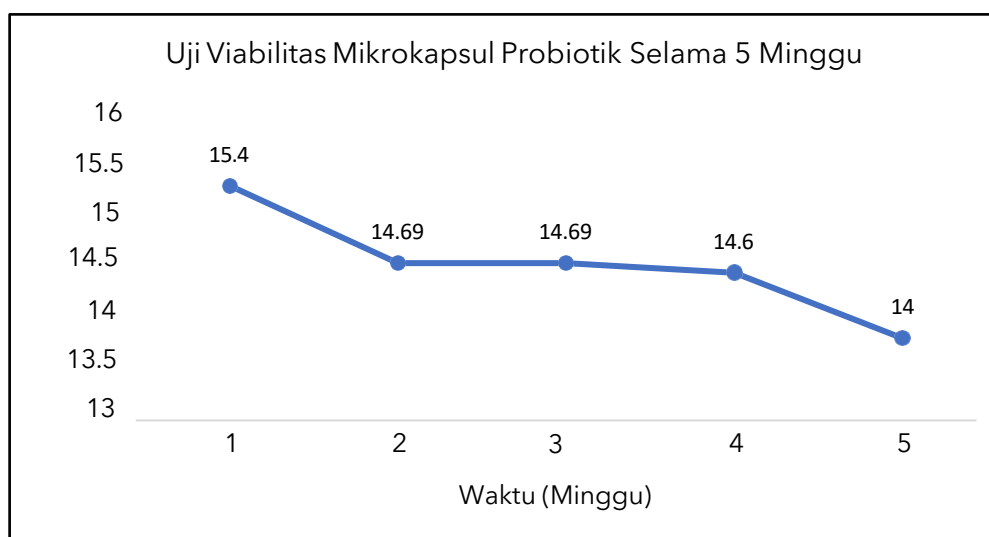
Isolat B yang menunjukkan aktivitas probiotik terbaik kemudian dipilih untuk proses enkapsulasi menggunakan metode *freeze drying*. Teknik ini banyak digunakan dalam industri pangan karena mampu mempertahankan stabilitas mikroorganisme dan melindungi sel dari kerusakan selama proses penyimpanan (Mokhtari et al., 2017).

Proses enkapsulasi dilakukan menggunakan bahan penyalut maltodekstrin dan susu skim. Maltodekstrin berfungsi sebagai bahan pembawa yang memiliki kelarutan tinggi dan viskositas rendah sehingga mampu membentuk matriks pelindung bagi mikroorganisme (Supriyadi & Sakha, 2013). Sementara itu susu skim mengandung laktosa yang dapat menjadi sumber nutrisi bagi bakteri probiotik (Aslam, 2016).

Penambahan bahan penyalut tersebut diketahui mampu

meningkatkan viabilitas sel bakteri selama proses pengeringan beku. Wang et al. (2016) melaporkan bahwa penggunaan susu skim dalam proses enkapsulasi dapat meningkatkan kelangsungan hidup *Lactobacillus plantarum* selama paparan terhadap kondisi lingkungan yang merugikan. Hasil yang serupa juga dilaporkan oleh Halim et al. (2017) yang menunjukkan bahwa penambahan susu skim pada proses *freeze drying* dapat meningkatkan viabilitas sel bakteri.

Meskipun demikian, proses pengeringan beku tetap dapat menyebabkan penurunan jumlah sel bakteri akibat kerusakan sel yang terjadi selama proses pembekuan dan pengeringan (Solanki et al., 2013; Wang et al., 2016). Penurunan viabilitas juga dapat terjadi akibat perubahan struktur membran sel yang disebabkan oleh tekanan osmotik selama proses pengeringan (Amine et al., 2014).



Gambar 2. Grafik Uji Viabilitas Probiotik Selama 5 Minggu

Pengaruh Probiotik terhadap Pertumbuhan Ayam Broiler

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian probiotik pada pakan ayam broiler memberikan pengaruh nyata terhadap pertambahan berat badan ayam selama masa pemeliharaan. Perlakuan R3 yang merupakan pakan buatan dengan penambahan probiotik terenkapsulasi dosis 0,5 g dua kali sehari menunjukkan pertambahan berat badan tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya, dengan berat akhir mencapai 1347 g pada minggu ke-6.

Peningkatan pertumbuhan ini diduga berkaitan dengan aktivitas probiotik dalam meningkatkan efisiensi pencernaan dan penyerapan nutrisi. Penambahan probiotik dapat memperbaiki mikroflora usus dan meningkatkan aktivitas enzim pencernaan sehingga nutrisi dalam pakan dapat diserap lebih optimal (Banerjee et al., 2013).

Selain itu, pemberian probiotik juga memberikan efek positif terhadap efisiensi pakan yang ditunjukkan oleh nilai konversi ransum yang lebih rendah pada perlakuan yang diberi probiotik. Menurut Susinarla (2016), pemberian probiotik dapat meningkatkan efisiensi penggunaan pakan dengan memperluas permukaan penyerapan nutrisi pada usus.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ayam yang diberi probiotik memiliki kondisi fisiologis yang lebih baik, ditandai dengan aktivitas yang lebih tinggi, bulu yang lebih bersih, serta bau feses yang lebih rendah dibandingkan perlakuan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa probiotik dapat

memperbaiki keseimbangan mikroflora usus sehingga proses metabolisme dan pencernaan menjadi lebih optimal

4. KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mengisolasi delapan bakteri asam laktat dari usus ayam buras (*Gallus domesticus*) yang hidup di ekosistem Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Antang. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa sebagian besar isolat merupakan bakteri Gram positif dengan bentuk basil dan kokus yang merupakan ciri umum bakteri asam laktat. Pengujian potensi probiotik menunjukkan bahwa lima isolat mampu bertahan pada kondisi asam dan garam empedu serta memiliki aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Isolat B menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi dengan zona hambat 11 mm terhadap *E. coli* dan 14,5 mm terhadap *S. typhi*. Isolat tersebut kemudian berhasil dienkapsulasi menggunakan metode *freeze drying* dengan maltodekstrin dan susu skim untuk menjaga viabilitasnya. Aplikasi probiotik terenkapsulasi pada ayam broiler terbukti meningkatkan pertambahan berat badan dan efisiensi pakan. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri asam laktat dari usus ayam buras di ekosistem TPA Antang berpotensi dikembangkan sebagai sumber probiotik untuk meningkatkan produktivitas ternak unggas.

5. DAFTAR PUSTAKA

Abushelaibi, A., Al Suheir, A., El Khaled, E., Prasad, N. S., & Al Mutamed, A. (2017). Characterization of

- potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *Journal of Food Science and Technology*, 79, 316-325.
- Adawiyah, S. R., Hafsan, H., Fatmawati, N., & Muhammad, H. M. (2015). Ketahanan bakteri asam laktat asal dangke terhadap garam empedu sebagai kandidat probiotik. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan*.
- Amine, K. M., Champagne, C. P., Salmieri, S., Britten, M., St-Gelais, D., & Fustier, P. (2014). Effect of palmitoylated alginate microencapsulation on viability of *Bifidobacterium longum* during freeze-drying. *Journal of Food Science and Technology*, 56(1), 111-117.
- Angmo, K., Kumari, A., & Bhalla, T. C. (2016). Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverages of Ladakh. *Journal of Food Science and Technology*, 66, 428-435.
- Aslam, M. M. A. N. (2016). Pengaruh pemberian probiotik terenkapsulasi pada pakan ayam broiler strain SR 707 terhadap kualitas daging dan konversi ransum (Skripsi). Universitas Hasanuddin.
- Banerjee, G., Ray, A. K., Askarian, F., & Ringo, E. (2013). Characterization and identification of enzyme-producing autochthonous bacteria from the gastrointestinal tract of two Indian air-breathing fish. *Beneficial Microbes*, 4, 277-284.
- Bernardeau, M., & Vernoux, J. (2013). Overview of differences between microbial feed additives and probiotics regarding regulation, growth promotion effects and health properties. *Clinical Microbiology and Infection*, 19, 321-330.
- Bhorgin, A. J., & Uma, K. (2014). Antimicrobial activity of earthworm powder (*Lampito mauritii*). *International Journal of Current Microbiology*, 3(1), 437-443.
- Bridson, E. Y. (1990). *The Oxoid manual* (6th ed.). Unipath Limited.
- Brisbin, J. T., Gong, J., Parvizi, P., & Sharif, S. (2010). Effects of lactobacilli on cytokine expression by chicken spleen and caecal tonsil cells. *Clinical and Vaccine Immunology*, 17, 1337-1343.
- Cencic, A., & Chingwaru, W. (2010). The role of functional foods, nutraceuticals and food supplements in intestinal health. *Nutrients*, 2, 611-625.
- Chandramouli, V., Kailasapathy, K., Peiris, P., & Jones, M. (2004). An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric condition. *Journal of Microbiological Methods*, 56, 27-35.
- Collado, M. C., Isolauri, E., Salminen, S., & Sanz, Y. (2009). The impact of probiotics on gut health. *Current Drug Metabolism*, 10(1), 68-78.
- Collin, C. H., Lyne, P. M., Grange, J. M., & Falkinham, J. O. (2004). *Microbiological methods* (8th ed.). Arnold.
- Das, L., Bhaumik, E., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2012). Role of nutraceuticals in human health.

- Journal of Food Science and Technology*, 49, 173-183.
- Djide, M. N., & Wahyuddin, E. (2008). Isolasi bakteri asam laktat dari air susu ibu dan potensinya dalam menurunkan kadar kolesterol secara in vitro. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 12(3).
- Fauziah, P. N., Nurhidayat, J., & Chrysanti. (2015). Daya antibakteri filtrat asam laktat dan bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*. *Majalah Kedokteran Bandung*, 47(1), 35-41.
- Garcia, M., Sorrondegui, Y., López, Y., & Carcassés, A. (2012). Empleo de probióticos en los animales.
- Gbassi, G. K., & Thierry, V. (2012). Probiotic encapsulation technology: From microencapsulation to release into the gut. *Pharmaceutics*, 4(1), 149-163.
- Gibbs, B. F., Selim, K., Inteaz, A., & Catherine, N. M. (2009). Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 50(3).
- Gueimonde, M., & Collado, M. C. (2012). Metagenomics and probiotics. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(4), 32-34.
- Halim, M., Nur, A. M. M., Othman, M., Wahid, H., Kamarudin, M. R., & Arbakariya, B. A. (2017). Effect of encapsulant and cryoprotectant on the viability of probiotic *Pediococcus acidilactici* during freeze-drying. *Journal of Food Science and Technology*, 81, 210-216.
- Jadhav, K., Sharma, K. S., Katoch, S., Sharma, V. K., & Mane, B. G. (2015). Probiotics in broiler poultry feeds: A review. *Journal of Animal Nutrition and Physiology*, 1, 4-16.
- Julianti, S., Dirayah, R. H., Zaraswati, D., & Ambeng. (2016). Uji bakteri probiotik pada usus ayam buras *Gallus domesticus* terhadap ayam broiler (Skripsi). Universitas Hasanuddin.
- Kabir, S. M. L. (2009). The role of probiotics in the poultry industry. *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 3531-3546.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13, 3-13.
- Lee, K. W., Park, S. K., Kim, H. J., Hwang, K. S., & Kim, J. H. (2016). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potentials from kimchi. *Journal of Food Science and Technology*, 71, 130-137.
- Marks, D. B., Marks, A. D., & Smith, C. M. (2012). *Basic medical biochemistry: A clinical approach*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Mardina, M., Dirayah, R. H., Zaraswati, D., & Ambeng. (2016). Uji bakteri probiotik pada usus ayam buras *Gallus domesticus* dari TPA Antang terhadap ayam broiler (Skripsi). Universitas Hasanuddin.
- Miao, J., Xu, M., Guo, H., Huang, L., Guo, X., Chen, C., Xu, H., & Chen, Y. (2015). Optimization of culture conditions for antimicrobial substance production by probiotic *Lactobacillus paracasei*.

- Journal of Functional Foods*, 18, 244-253.
- Miremadi, F., Ayyash, M., Sherkat, F., & Stojanovska, L. (2014). Cholesterol reduction mechanisms and fatty acid composition of probiotic lactobacilli and bifidobacteria. *Journal of Functional Foods*, 9, 295-305.
- Mokhtari, S., Khomeiri, M., Jafari, S. M., Maghsoudlou, Y., & Ghorbani, M. (2017). Bacterial profile and characteristics of probiotic microcapsules during storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 1042-1048.
- Neha, A., Singh, K., Bharti, A., & Gupta, T. (2012). Probiotic as effective treatment of disease. *International Research Journal of Pharmacy*.
- Oh, Y. J., & Jung, D. S. (2015). Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* and *Pediococcus* strains isolated from Omegisool. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 437-444.
- Solanki, H. K., Patel, D., Shah, D., Patel, V., Jain, G., & Thakar, P. (2013). Development of microencapsulation delivery system for long-term preservation of probiotics. *BioMed Research International*.
- Speranza, B., Racioppo, A., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2017). Autochthonous lactic acid bacteria with probiotic aptitude as starter cultures for fish-based products. *Food Microbiology*, 65, 244-253.
- Sumbono, A. (2016). *Biokimia pangan dasar*. Deepublish.
- Supriyadi, S., & Sakha, R. (2013). Karakteristik mikrokapsul minyak atsiri lengkuas dengan maltodekstrin sebagai enkapsulan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 24(2), 201-208.
- Surono, I. S. (2004). *Probiotik susu fermentasi dan kesehatan*. Tri Cipta Karya.
- Susinarla, L. (2016). *Penggunaan berbagai dosis probiotik pada pakan terhadap produktivitas ayam pedaging* (Skripsi). Universitas Airlangga.
- Wang, L., Yang, X., Xu, H., Azevedo, Z. P., & Wang, H. (2016). Effect of skim milk coated inulin-alginate encapsulation beads on viability of *Lactobacillus plantarum* during freeze-drying. *Journal of Food Science and Technology*, 68, 8-13.
- Widodo, W., Soeparno, S., & Wahyuni, E. (2003). Bioencapsulation of prebiotics (*Lactobacillus casei*) with pollard and wheat flour. *Journal of Food Technology and Industry*, 14(2), 98-106.
- Wu, W., Roe, W. S., Gimino, V. G., Seriburi, V., Martin, D. E., & Knapp, S. E. (2000). Low melt encapsulation with high laurate canola oil. *US Patent*.
- Zhou, Q., Wang, S. S., Yang, G., Zhang, W., & Li, H. L. (2016). Development and evaluation of a herbal formulation with anti-pathogenic activities and probiotics stimulatory effects. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(5), 1103-1111.