

Bakteri Asam Laktat dari Intestin Ayam sebagai Agensia Probiotik

(Lactic Acid Bacteria Isolated from the Gastro-Intestinal Tract of Chicken: Potential Use as Probiotic)

Sri Harimurti¹, Endang Sutriswati Rahayu^{2*}, Nasroedin¹ dan Kurniasih³

¹Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

²Department of Food and Agricultural Technology Gadjah Mada University, Yogyakarta 55281

³Faculty of Veterinary Medicine Gadjah Mada University, Yogyakarta 55281

ABSTRACT: Lactic acid bacteria have been suggested to have several beneficial effects on human and animals. These bacteria, indigenous to the gastro-intestinal tract, are important in regulating the balance among the desirable and undesirable intestinal microflora and in controlling enteric pathogenic infection in the host. Objectives of this research are to obtain lactic acid bacteria isolates from gastro-intestinal tract of chicken and to screen their ability as a probiotic agent i.e., their antagonistic against pathogenic bacteria, their survival at low pH and high concentration of bile salt. In this research, 74 samples used as sources of bacteria, and among them only 11 samples could be isolated as lactic acid bacteria with the total number of isolates of 61. Based on the preliminary screening i.e., their antagonistic factor against pathogenic bacteria, 20 isolates was further studied. Based on the identification scheme, these isolates belong to three species, i.e., *Lactobacillus murinus*, *Pediococcus acidilactici*, and *Streptococcus thermophilus*. The result showed that most isolates grow well in the media with the initial pH of 5.5, but their growth were retarded when the initial pH 3.5. Only one isolate *Streptococcus thermophilus* Kp-2 showed its growth at initial pH of 3.5. All isolates did not show any growth at initial pH 2.5, though their viability still high. The result based on the isolates resistance to bile salt showed that most isolates could grow at media with 0.20% of bile salt. Their growth was inhibited with the increasing bile salt concentration. However, few isolates could grow well at media with 1% of bile salt. Based on their characteristics three isolates i.e., *Lactobacillus murinus* Ar-3, *Streptococcus thermophilus* Kp-2, and *Pediococcus acidilactici* Kd-6 were selected as probiotic agents for the continuing research. i.e. production of biomass and its application to chicken production.

Key Words : Lactic acid bacteria, gastro- intestinal tract of chicken, probiotic agents

Pendahuluan

Probiotik oleh Fuller (1989) diartikan sebagai suplemen pakan yang berisi mikrobial hidup (*direct-fed microbials*). Kini banyak dijadikan alternatif untuk menggantikan penggunaan antibiotik yang berlebihan atau paling tidak menurunkan dosis yang digunakan oleh para peternak ayam (Yeo dan Kim, 1997). Menurut Jin *et al.* (1997) penggunaan antibiotik yang terus menerus dengan dosis sub-terapi untuk pakan ayam akan meninggalkan residu pada daging dan telur dan dapat meningkatkan resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik (*drug-resistant bacteria*). Di-laporkan bahwa ayam broiler yang dipelihara selama 33 hari diberikan dua tingkatan dosis antibiotik *fluoroquinolone* dan *erofloxacin* sebesar 25 ppm dan 50 ppm, memperlihatkan adanya residu dari keduanya pada daging

dada dan paha baik selama ayam diberi antibiotik maupun setelah tiga hari dan tujuh hari diberhentikan pemberiannya (Reyes – Herrera *et al.*, 2005). Standard maksimal residu antibiotik sudah ditentukan oleh FDA yaitu sebesar 0,50 µg/g daging. Namun demikian hasil monitoring *Food Safety Inspection Service* (FSIS) tahun 1997 sampai dengan tahun 2000 ditemukan pelanggaran adanya residu antibiotik pada daging kalkun muda dan ayam muda sebesar 0,20% dan pada ayam dewasa 0,40% (Donoghue, 2003).

Probiotik dengan menggunakan bakteri yang potensial dapat memacu keseimbangan mikroflora pada saluran pencernaan sehingga mikroflora yang normal dapat sedini mungkin dimiliki oleh ayam. Ayam dengan kondisi mikroflora yang seimbang akan memiliki resistensi atau daya tahan yang lebih kuat, khususnya terhadap serangan bakteri patogen usus (Carvalho dan Hansen, 2005). Probiotik yang diperkirakan dapat meningkatkan produksi ternak juga memiliki keuntungan yang lain yaitu dapat meningkatkan aktivitas enzim pencernaan, menurunkan aktivitas enzim bakteri dan produksi

* Korespondensi penulis : e-mail endangsrhayu@yahoo.com

menurunkan aktivitas enzim bakteri dan produksi amonia, perbaikan *feed intake and digestion*, serta dapat menstimulasi sistem imunitas (Davis dan Anderson, 2002). Gilliland (1989) dan Fuller (1989) menyebutkan persyaratan bakteri asam laktat (BAL) yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik, selain harus merupakan penghuni tetap jalur pencernaan, bakteri ini harus memiliki sifat : toleran terhadap asam atau empedu, mampu tumbuh dengan cepat dan memproduksi asam dalam jumlah besar pada jalur intestin, memproduksi substansi antimikrobia yang dapat menekan patogen intestin, mempunyai kemampuan untuk menempel pada sel epitel usus, sehingga akan terjadi peningkatan sel lempeng Peyer sebagai indikasi tersekresinya *immunoglobulin* (IgA) yaitu reaksi terbentuknya kekebalan ayam terhadap infeksi bakteri. Syarat ideal lainnya adalah dapat dikembangkan dengan mudah dan cepat, toleran terhadap panas dan memiliki daya tahan yang tinggi terhadap proses preparasi dan penyimpanan (Salminen dan Wright, 1998).

Probiotik komersial saat ini memang telah banyak dipasarkan, namun demikian potensinya perlu diuji terlebih dahulu untuk dikembangkan di Indonesia. Probiotik dengan memanfaatkan isolat BAL yang diisolasi dari ayam lokal dan yang berpotensi untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen yang menjadi kasus setempat, diperkirakan lebih prospektif. Penggunaan isolat *indigenous* dari saluran pencernaan ayam sehat lokal memiliki keunggulan karena lebih mudah beradaptasi dengan lingkungannya, sehingga keseimbangan mikroflora dengan cepat dapat diperoleh. Ayam yang sejak dini sudah memiliki keseimbangan mikroflora yang baik dan mantap akan lebih resisten terhadap serangan infeksi bakteri patogen.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari saluran pencernaan ayam dan skrining terhadap potensinya sebagai agensia probiotik ayam.

Metode Penelitian

Sumber dan Isolasi Bakteri Asam Laktat

Sampel yang digunakan sebagai sumber bakteri asam laktat dalam penelitian ini adalah organ pencernaan ayam (*crop, gizzard, duodenum, jejunum dan ileum, caecum, colon*). Organ pencernaan diambil dari ayam kampung dewasa sehat di Yogyakarta. Adapun metode yang digunakan untuk isolasi bakteri asam laktat adalah dengan metode

goresan pada media GYP yang ditambah dengan CaCO_3 . Caranya dengan inokulasi goresan kultur yang tumbuh pada GYP cair. Sampel dari berbagai organ pencernaan ayam yang masih segar dimasukkan ke dalam media cair GYP (glukosa-yeast ekstrak-pepton pada berbagai variasi pH awal) yang ditambah 0,20% *oxgall* dan 0,20% *bile salt* sebagai agensia selektif mikrobia intestin dan 10 ppm sodium azida untuk mengikat oksigen sehingga menekan pertumbuhan mikrobia aerob. Inkubasi dilakukan pada *vacuum chamber*, suhu 37°C selama 24-48 jam untuk memberi kesempatan bakteri berkembang biak. Koloni bakteri asam laktat dapat dibedakan dengan koloni bakteri yang lain yaitu dengan munculnya zona jernih akibat dari asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Koloni yang diduga bakteri asam laktat ini selanjutnya dimurnikan.

Uji Aktivitas Antibakteri Patogen

Salah satu kriteria yang digunakan untuk memilih isolat BAL yang akan digunakan sebagai agensia probiotik adalah kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen enterik yang menjadi kasus utama di Indonesia, yaitu *Esherichia coli* dan *Salmonella*. Adapun metode yang digunakan di dalam penelitian ini adalah difusi agar menggunakan metode sumuran. Untuk uji antibakteri (non asam), kultur yang telah tumbuh pada medium TGE (*tripton-glukosa-yeast* ekstrak) umur 24 jam, dipisahkan dengan sentrifugasi. Supernatan yang telah dinetralkan diuji aktivitas penghambatannya terhadap bakteri patogen. Cara pengujiannya yaitu dengan meneteskan kultur atau supernatan netral pada sumuran atau *paper disc* yang diletakkan ditengah cawan Petri yang sebelumnya telah dituangi (*overlay*) dengan media yang diinokulasi dengan bakteri patogen (Rahayu *et al.*, 1996). Kemampuan penghambatan terhadap bakteri patogen ditunjukkan dengan munculnya zona jernih disekeliling sumur atau *paper disc*. Bakteri patogen enterik yang digunakan dalam penelitian ini diambilkan dari koleksi Klinik Hewan di Yogyakarta.

Kecepatan Tumbuh dan Uji Asam

Uji yang lain yang digunakan sebagai kriteria untuk seleksi BAL adalah uji kecepatan tumbuh dan asam yang dihasilkan, caranya yaitu isolat BAL ditumbuhkan pada media yang cocok (MRS atau TGE) dan setiap periode waktu tertentu diuji massa sel (OD) dan asam (titrasi dengan 0.1 N NaOH) yang terbentuk. Uji yang lain adalah ketahannya terhadap asam (*bile salt*), caranya adalah menumbuhkan BAL pada MRS

terbentuk. Uji yang lain adalah ketahanannya terhadap asam (*bile salt*), caranya adalah menumbuhkan BAL pada MRS atau TGE yang ditambah dengan bervariasi konsentrasi *bile salt*, dan diuji ketahanannya.

Pengujian Ketahanan terhadap *Bile Salt*

Untuk mengetahui ketahanannya terhadap *bile salt* atau garam empedu, isolat BAL ditumbuhkan pada media cair PGY dengan variasi konsentrasi *bile salt* yaitu 0,20; 0,40; 0,80 dan 1,00%, dan tanpa *bile salt* sebagai kontrol. Kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan BAL dinyatakan dengan OD (*optical density*) pada $\lambda = 660$ nm. Pada uji ini juga dilakukan perhitungan jumlah koloni pada awal dan setelah inkubasi 24 jam.

Pengujian Ketahanan terhadap Kondisi Asam

Untuk mengetahui ketahanannya terhadap kondisi asam, isolat BAL ditumbuhkan pada media cair PGY dengan variasi pH awal media yaitu pH 2,50; 3,50; 4,50; dan 5,50 dan tanpa pengaturan pH. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan HCl. Kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan BAL dinyatakan dengan OD (*optical density*) pada $\lambda = 660$ nm. Pada uji ini juga dilakukan perhitungan jumlah koloni pada awal dan setelah inkubasi 24 jam.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Tahapan isolasi adalah diarahkan pada *Lactobacillus* dan bakteri asam laktat yang lain dari bagian-

bagian saluran pencernaan ayam mulai dari *crop*, *gizzard*, *duodenum*, *jejunum* dan *ileum*, *caecum* serta *colon* yang berasal dari berbagai jenis ayam kampung (Arab, Legund, Kedu, Ayam Kapas) ataupun ayam kampung yang dijual di pasaran.

Pemilihan ayam kampung sebagai sumber mikrobial pada penelitian ini adalah dugaan bahwa mikroflora yang terdapat pada ayam ini lebih bervariasi dibandingkan ayam ras pedaging maupun ayam petelur yang sering kali pakannya disuplementasi dengan antibiotik. Di samping itu ayam kampung yang dilepas berkeliaran (liar) belum dipengaruhi antibiotik. Isolat yang sudah terpengaruh dikhawatirkan resisten terhadap mikrobial. Gen resistensi mikrobial diatur oleh plasmid dan DNA yang strukturnya sirkular. Bila terjadi konjugasi maka khusus untuk plasmid tertentu akan mentransfer DNA dari strain bakteri yang satu kepada strain yang lain. Bilamana berpindah pada mikrobial patogen, maka mikrobial tersebut menjadi resisten sehingga sulit untuk dibunuh, penggunaan antibiotik menjadi tidak efisien (Anonimus, 2006). Hasil isolasi disajikan pada Tabel 1.

Dari 74 sampel yang digunakan sebagai sumber mikrobial, bakteri asam laktat hanya dapat diisolasi dari 11 sampel. Dari hasil isolasi ini diperoleh sekitar 61 isolat yang setelah diuji lebih lanjut, khususnya daya antagonismenya terhadap patogen enterik (*E. coli* dan *Salmonella*) hanya dipilih 20 isolat yang representatif untuk penelitian berikutnya.

Tabel 2 menyajikan hasil uji antagonistik isolat bakteri asam laktat terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella enteritidis* serta dugaan spesies.

Tabel 1. Isolasi BAL dari saluran pencernaan ayam

Sumber	Jenis ayam	Jumlah sampel	Jumlah isolat	Isolat terpilih	Dugaan species
Crop	Indigenous	25	13	Ar 5,6,7,8,9 Ps 7	<i>Lactobacillus murinus</i> <i>Pediococcus acidilactici</i>
Gizzard	Indigenous	10	3	Kp 8,9,10	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Intestin	Indigenous	8	8	Lg 16	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Kolon	Indigenous	1	0		
Caecum	Indigenous	30	34	Kp 2 Kd 3, 8 Kd 6,10 Lg 8 Ar 1,2,3,4	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Lactobacillus murinus</i>
Total		74	61	20	

Ar – isolat dari ayam Arab; Lg – isolat dari ayam Legund; Kd – isolat dari ayam Kedu; Kp – isolat dari ayam Kapas; Ps – isolat dari ayam pasar

Tabel 2. Hasil uji antagonistik 20 isolat bakteri asam laktat hasil seleksi awal terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella enteritidis*

No	No isolat	Dugaan spesies	Sumber	Titrasi * (ml 0,1 N NaOH)	Penghambatan**			
					<i>E. coli</i>		<i>S. enteritidis</i>	
					S	SN	S	SN
1	Ar-5	<i>L. murinus</i>	Crop	1,30				
2	Ar-6	<i>L. murinus</i>	Crop	1,50	-	-	++	-
3	Ar-7	<i>L. murinus</i>	Crop	2,50	+	-	+++	-
4	Ar-8	<i>L. murinus</i>	Crop	2,50	+	-	+++	-
5	Ar-9	<i>L. murinus</i>	Crop	1,10	+	-	+++	-
6	Ps-7	<i>P. acidilactici</i>	Crop	2,40	-	-	+++	-
7	Kp-8	<i>P. acidilactici</i>	Gizzard	2,30	-	-	+++	+
8	Kp-9	<i>P. acidilactici</i>	Gizzard	2,30	-	-	+++	+
9	Kp-10	<i>P. acidilactici</i>	Gizzard	2,20	+	-	+++	+
10	Lg-16	<i>P. acidilactici</i>	Ileum	1,90	+	-	+++	+
11	Ar-1	<i>L. murinus</i>	Caecum	2,10	+	-	+++	+
12	Ar-2	<i>L. murinus</i>	Caecum	2,80	+	-	++	++
13	Ar-3	<i>L. murinus</i>	Caecum	3,00	++	-	++	++
14	Ar-4	<i>L. murinus</i>	Caecum	2,30	+	-	++	++
15	Kd-3	<i>S. thermophilus</i>	Caecum	2,00	+	-	+++	+
16	Kd-6	<i>P. acidilactici</i>	Caecum	1,90	++	-	+++	+
17	Kd-8	<i>S. thermophilus</i>	Caecum	1,90	+	-	+++	+
18	Kd-10	<i>P. acidilactici</i>	Caecum	2,40	+	-	+++	+
19	Kp-2	<i>S. thermophilus</i>	Caecum	2,10	-	-	++	-
20	Lg-8	<i>P. acidilactici</i>	Caecum	2,20	+	-	+++	+

* Titirasi yang diperlukan untuk menetralkan asam yang dihasilkan selama fermentasi 2 (dua) ml kultur

** Nilai +/+/+/+ menunjukkan luas zona jernih secara kualitatif yang menunjukkan adanya penghambatan, nilai - (negatif) menunjukkan tidak ada penghambatan

Tahapan berikut dari penelitian ini adalah identifikasi ke 20 isolat terpilih. Identifikasi didasarkan pada karakteristik masing-masing isolat yaitu pertumbuhannya pada berbagai pH dan suhu, tipe fermentasi serta kemampuannya menghasilkan asam dari berbagai sumber karbon. Isolat berbentuk batang sebanyak sembilan isolat (Tabel 3), isolat berbentuk bulattetrat sebanyak delapan isolat (Tabel 4) dan isolat berbentuk bulat ada tiga isolat (Tabel 5).

Hasil isolasi diperoleh bahwa bakteri asam laktat yang berasal dari saluran pencernaan ayam didominasi oleh *Lactobacillus murinus*, *Pediococcus acidilactici* dan *Streptococcus thermophilus*. *Lactobacillus murinus* merupakan bakteri asam laktat yang habitatnya adalah saluran pencernaan, sedangkan *Pediococcus acidilactici* dan *Streptococcus*

thermophilus adalah bakteri asam laktat yang tahan terhadap kekeringan maupun suhu tinggi.

Ketahanan Isolat Probiotik pada pH Rendah

Standar yang digunakan untuk isolat bakteri asam laktat untuk dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah isolat tersebut harus mampu bertahan pada pH 3 selama 2 jam (Itoh, 1992). Selain itu, Drasar dan Barrow (1985) juga menyebutkan berbagai kondisi yang berbeda pada saluran pencernaan, yang terendah diperkirakan pada *gizzard* yang mencapai 2,50. Dengan demikian isolat bakteri asam laktat yang digunakan sebagai agensia probiotik harus dapat bertahan pada kondisi pH yang bervariasi saat melewati saluran pencernaan ayam.

Dari hasil uji ini diperoleh kesimpulan bahwa ke 20 isolat yang telah melewati seleksi awal rata-rata memiliki ketahanan yang cukup tinggi pada pH

rendah. Saat ditumbuhkan pada media dengan pH awal 5,50 isolat ini tetap tumbuh dengan baik dan tidak memberikan perbedaan pertumbuhan yang nyata.

Tabel 3. Identifikasi isolat berbentuk batang *Lactobacillus*

Karakteristik	Ar5	Ar6	Ar7	Ar8	Ar9	Ar1	Ar2	Ar3	Ar4	Lm	La
Asal	Crp	Crp	Crp	Crp	Crp	Ccm	Ccm	Ccm	Ccm	Ref	Ref
Bentuk sel	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Produksi Gas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tipe fermentasi	Hm	Hm	Hm	Hm	Hm	Hm	Hm	Hm	Hm	Hm	Hm
Katalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pertumb. 15 C	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Pertumb. 45 C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Pertumb. pH 3,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pertumb. pH 9,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Tipe DAP	NoD	NoD	NoD	NoD	NoD	NoD	NoD	NoD	NoD	NoD	NoD
Pembentukan asam dari berbagai sumber karbon											
Arabinosa	-	+	+	+	+	D	D	+	+	+	-
Celobiosa	-	+	D	D	+	+	+	+	+	+	+
Fruktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktosa	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukonat	D	+	D	D	+	+	+	+	+	-	-
Laktosa	+	-	D	+	+	D	D	-	D		+
Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+
Manitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	D	-
Manosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+
Melibiosa	D	-	D	D	D	D	D	D	D	+	-
Melezitosa	-	-	-	D	-	+	+	+	+	-	D
Rhamnosa	-	-	D	D	D	-	D	-	+		-
Ribosa	D	D	+	D	+	+	+	+	+	+	-
Salisin	-	-	D	D	-	+	+	+	+		+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pati (Starch)	-	-	-	-	-	D	-	-	-		+
Sukrosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalosa	+	+	+	+	+	+	+	-	+		D
Xylosa	-	D	-	-	-	-	D	-	D	-	-
Tanpa gula	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Dugaan) spesies	La	Lm	Lm	Lm	Lm	Lm	Lm	Lm	Lm	Lm	

Ar- ayam Arab; Crp – crop; Ccm – caecum; Ref - referensi

D – fermentasi berlangsung lambat

NoD – Tipe Non DAP

La – *Lactobacillus acidophilus*

Lm – *Lactobacillus murinus*

Tabel 4. Identifikasi isolat berbentuk bulat - tetrad *Pediococcus*

Karakteristik	Ps-7	Kp-8	Kp-9	Kp-10	Lg-16	Kd-6	Kp-10	Lg-8
Asal	Crop	Gzrd	Gzrd	Gzrd	Ileum	Ccm	Ccm	Ccm
Bentuk sel	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Susunan	Tetrad	Tetrad	Tetrad	Tetrad	Tetrad	Tetrad	Tetrad	Tetrad
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+
Produksi Gas	-	-	-	-	-	-	-	-
Tipe fermentasi	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo
Katalase	-	-	-	-	-	-	-	-
Pertumb. 10 C	-	-	-	-	-	-	-	-
Pertumb. 15 C	+	+	+	+	+	+	+	+
Pertumb. 50 C	+	+	+	+	+	+	+	+
Pertumb pH 3,5	D	+	+	D	D	D	D	D
PertumbpH 9,0	+	+	+	+	+	+	+	+
Pembentukan asam dari berbagai sumber karbon								
Arabinosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Fruktosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukonat	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktosa	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltosa	-	-	-	-	-	-	-	-
Manitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Manosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiosa	-	-	-	-	-	-	-	-
Melezitosa	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinosa	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnosa	-	+	-	-	-	-	-	-
Ribosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Salisin	D	-	D	D	D	+	D	D
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-
Pati (Starch)	-	-	-	-	-	-	-	-
Sukrosa	-	-	-	-	D	-	-	-
Trehalosa	+	+	+	+	+	-	-	+
Xylosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanpa gula	-	-	-	-	-	-	-	-
(Dugaan) spesies	Pa	Pa	Pa	Pa	Pa	Pa	Pa	Pa

Ps- ayam dibeli dipasar; Kp- ayam Kapas; Lg- ayam Legund; Kd- ayam Kedu; Gzrd - Gizzard ; Ccm - caecum

D - fermentasi berlangsung lambat

Pa - *Pediococcus acidilactici*

Tabel 5. Identifikasi isolat berbentuk bulat

Karakteristik	Kd-3	Kd-8	Kp-2
Asal	Ccm	Ccm	Ccm
Bentuk sel	Bulat	Bulat	Bulat
Gram	+	+	+
Produksi Gas	-	-	-
Tipe fermentasi	Homo	Homo	Homo
Katalase	-	-	-
Pertumb. 10 C	-	-	-
Pertumb. 15 C	+	+	+
Pertumb. 50 C	+	+	+
Pertumbuhan pH 3,5	D	D	+
Pertumbuhan pH 9,0	+	+	+
Pembentukan asam dari berbagai sumber karbon			
Arabinosa	+	+	+
Selobiosa (Cellobiosa)	+	+	+
Fruktosa	+	+	+
Galaktosa	+	+	+
Glukosa	+	+	+
Glukonat	-	-	-
Laktosa	D	D	+
Maltosa	-	-	+
Manitol	-	-	D
Manosa	+	+	+
Melibiosa	-	-	+
Melezitosa	-	-	+
Rafinosa			
Rhamnosa	+	+	-
Ribosa	+	+	+
Salisin	+	+	+
Sorbitol	-	-	D
Pati (Starch)	-	-	-
Sukrosa	D	-	+
Trehalosa	D	-	+
Xylosa	+	+	+
Tanpa gula	-	-	-
(Dugaan) spesies	St	St	St

Kd - ayam Kedu; Kp- ayam Kapas; Ccm - caecum; D - fermentasi berlangsung lambat
St - *Streptococcus thermophilus*

Kekeruhan yang menunjukkan intensitas pertumbuhan yang diuji dengan mencermati OD setelah isolat ditumbuhkan selama 24 jam, ternyata tidak memberikan perbedaan yang menyolok, rata-rata OD yang dicapai tetap di atas 2, seperti halnya pertumbuhan pada pH media normal (pH 6,80).

Namun setelah isolat-isolat ini ditumbuhkan pada media yang pH awalnya 4,50 ternyata pertumbuhan beberapa isolat tidak selebat pada pertumbuhan dengan kondisi normal ditunjukkan dengan OD setelah 24 jam mengalami sedikit penurunan.

Pada Tabel 6 menunjukkan rata-rata pertumbuhan isolat mulai nampak terhambat pada pH 3,5. Namun

isolat Kp-2, Kd-6 dan Ar-3 tetap dapat tumbuh dengan baik. Pada saat pH awal media diturunkan menjadi 2,5 ternyata seluruh isolat tidak mampu melakukan pertumbuhan, ditunjukkan dengan OD yang rata-rata tidak meningkat setelah isolat diinkubasi selama 24 jam. Namun demikian dari enumerasi, diketahui bahwa jumlah sel yang *survive* tetap tinggi (angka kematian sel rendah). Kondisi ini didukung oleh Ricke (2003) yang melaporkan bahwa telah dikenal lebih dari 60 tahun bahwa bakteri memiliki kemampuan metabolik untuk merespon kondisi lingkungan dengan pH rendah.

- Drasar, B.S., and P.A. Barrow, 1985. *Intestinal Microbiology*. American Society for Microbiology. Washington.
- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animal. *Journal Applied Bacteriology* 66: 365 – 378.
- Fuller, R., 1992. *Probiotic : The Scientific Basic*. Chapman & Hall. London.
- Gilliland, S.E., 1989. Acidophilus milk products : a review of potential benefits to consumers. *Journal of Dairy Science* 72: 2483- 2494.
- Itoh, T., 1992. Functional benefits from lactic acid bacteria used incultured milk. *Animal Science Technology* 63: 1278 – 1289.
- Jin, L.Z., Y.W. Ho, N. Abdullah and S. Jalaludin, 1997. Probiotics in poultry : modes of action. *Journal World's Poultry Science* 53: 351 – 368.
- Rahayu, E.S., Djaafar, T.F., Wibowo, D., dan Sudarmadji, S., 1996. Lactic acid bacteria from indigenous fermented foods and their antimicrobial activity. *Indonesian Food and Nutrition Progress* 3 (2): 21 – 28.
- Ray, B., dan Sadine, 1992. Acetic, Propionic. Lactic Acid of Starter Culture Bacteria as Bio Preservatives. In : *Food Biopreservatives of Microbial Origin*. Ray, B and M.A. Daeschel (editor). CRC. Press. Mexico.
- Reyes-Herrera I., M. J. Schneider, M.B. Farnell, P. J. Blore and D. J. Donoghue, 2005. Concentrations of antibiotics residues vary between edible muscle tissue in poultry. *Journal Food Protein*. 68 (10) : 2217 – 2219.
- Ricke, S.C., 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Journal of Poultry Science* 82: 632 – 639.
- Salminen, S., dan Atte van Wright, 1998. *Lactic Acid Bacteria Microbiology and Funcional Aspect*. 2nd Ed. Marcel Dekker, Inc. New york. Basel.
- Yeo, J. dan Kyu- Il Kim, 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Journal of Poultry Science* 76: 381 – 385.