



Isolasi dan Uji Patogen Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Usus Ayam Kampung yang Dipelihara Secara Intensif Di Kefamenanu

Welsiliana^{1*}, Charles Venirius Lisnahan², Lukas Pardosi¹

¹Program Studi Biologi, Universitas Timor

²Program Studi Peternakan, Universitas Timor

*Corresponding author : welsiliana@unimor.ac.id

Article History

Received : 09 January 2023

Approved : 06 February 2023

Published : 31 March 2023

Keywords

LAB, native chicken intestine, pathogenic bacteria.

ABSTRACT

This study aimed to isolate LAB from the intestines of native chickens and to test the ability of LAB activity against pathogenic bacteria. Bacterial isolation was carried out by taking chicken intestines, then diluting up to 10^2 . The results of the dilution were taken 1 ml to be inoculated into MRSA media using the pour plate technique, streak plate technique was used to obtain pure cultures and then incubated at 37°C for 24 hours. LAB culture testing for pathogenic bacteria was carried out using MHA media containing Escherichia coli cultures, then incubation for 120 hours at 37°C. Observation parameters included colony shape, colony color, number of LAB colonies, the diameter of the clear zone and LAB colonies. The results showed that the bacteria isolated from the intestines of native chickens were LAB which had around colony shape and were yellowish-white (beige)-milky white. The number of LAB colonies obtained was 3.7×10^5 CFU/ml with the best inhibitory ability of pathogenic bacteria found in USA 3 isolates (1.85 cm clear zone; 0.90 cm colony size) after incubation for 120 hours.

© 2023 Universitas Kristen Indonesia
Under the license CC BY-SA 4.0

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan anggota mikroba yang populasinya ditemukan di dalam usus ayam, tanaman, dan kotoran yang memainkan peran penting dalam menjaga keseimbangan ekologis antara berbagai spesies mikroorganisme (Messaoudi *et al.*,

2011). Peranan BAL sampai saat ini masih terus dikembangkan karena memiliki manfaat yang begitu banyak, misalnya di industri fermentasi makanan, produk-produk fermentasi susu sampai pada penggunaan BAL untuk pakan (Chim-anage *et al.*, 2008; Bintsis 2018; Colombo

et al., 2018). Selain itu, mikroorganisme ini dapat meningkatkan pencernaan laktosa, merangsang sistem kekebalan tubuh dan mengobati penyakit diare, diabetes, menurunkan kolestrol dan lain-lain (Ashraf & Shah, 2014; Mathur *et al.*, 2020).

Secara alamiah BAL berada di dalam usus unggas, akan tetapi keberadaannya relatif tidak stabil karena dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan pakan. Madigan *et al.*, (2009) menjelaskan bahwa kelompok bakteri asam laktat merupakan mikroflora normal dalam saluran pencernaan ayam terutama yang hidup dalam usus halus dan usus besar. BAL di dalam usus dapat menghasilkan berbagai senyawa seperti asam organik, diasetil, hidrogen peroksida, dan bakteriosin atau protein bakterisida selama fermentasi laktat (Musikasang *et al.*, 2009). Kemampuan BAL menghasilkan senyawa-senyawa tersebut, menjadikan mikroorganisme ini dimanfaatkan sebagai probiotik. Kinerja mikroba probiotika umumnya mengeluarkan senyawa toksin yang dapat mereduksi atau menghambat perkembangan mikroba-mikroba patogen dalam organ pencernaan termasuk pada saluran pencernaan ayam Kampung.

Ayam Kampung merupakan ayam lokal yang terus dikembangkan melalui produksi daging dan telur. Akan tetapi, kemampuan produktivitas ayam Kampung belum optimal karena kualitas pakan yang masih tergolong rendah (Permana *et al.*,

2014). Lisnahan *et al.*, (2018) juga menyatakan bahwa reproduktivitas dan produktivitas ayam Kampung sangat ditentukan oleh komposisi pakan. Kendala tersebut dapat diatasi dengan meningkatkan sistem pemeliharaan ayam secara intensif melalui pemberian pakan yang memperhatikan keseimbangan antara makro dan mikro nutrien, sehingga dengan bertambahnya asupan nutrien dari pakan dapat mempengaruhi pertumbuhan ayam Kampung. Selain itu, dengan pemberian pakan yang berkualitas diharapkan dapat meningkatkan kekebalan tubuh ayam terhadap penyakit melalui aktivitas mikroba probiotik (Ahmad, 2006).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah usus ayam Kampung, media *de Man Rogose and Sharpe Agar* (MRSA), media *Nutrient Broth* (NB), media *Muller Hilton Agar* (MHA), *cotton bud swab* steril, HCl, aquades, alkohol 70%, kertas label dan tisu. Alat yang digunakan yaitu cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, jarum ose, bunsen, pipet mikro 1000 μ L, gelas ukur, gunting, pinset, timbangan analitik, oven, *autoclave*, *hotplate* dan *laminar air flow*.

Isolasi Bakteri BAL

Ayam Kampung yang telah dipelihara secara intensif diambil sebagai sampel, kemudian dilakukan pembedahan.

Selanjutnya diambil bagian usus untuk dilakukan isolasi bakteri di laboratorium. Teknik isolasi bakteri yang digunakan yaitu metode tuang atau sebar (*pour plate*), metode ini adalah tahapan awal untuk menumbuhkan BAL di media MRSA (Amin *et al.*, 2018).

Isolasi BAL dilakukan dengan mengambil usus yang telah dipotong ukuran 1 cm, kemudian secara aseptik disuspensikan ke dalam larutan fisiologis (HCl). Selanjutnya untuk mendapatkan koloni bakteri yang terpisah, maka dilakukan pengenceran 10^0 , 10^1 dan 10^2 . Hasil pengenceran selanjutnya diambil 1 ml kemudian diinokulasikan ke dalam media MRSA dengan teknik *pour plate* dan diinkubasi 37°C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh diambil 1 ose untuk diinokulasikan kembali ke media MRSA dengan teknik gores (*streak plate*), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sehingga didapatkan biakan murni (Chotiah & Damayanti, 2018; Putri & Kusdiyantini, 2018; Shazali *et al.*, 2019).

Perhitungan Koloni Bakteri BAL

Total koloni bakteri dihitung dengan metode cawan agar (Sari *et al.*, 2013). Sebanyak 1 gr usus ayam diinokulasikan ke dalam 100 ml NB, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Dilakukan pengenceran 10^0 , 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , selanjutnya disuspensikan ke dalam media MRSA dan diinkubasi selama 24 jam. Koloni BAL

yang tumbuh di media MRSA dihitung dalam satuan *Colony Formil Units per milliliter* (CFU/ml). Koloni bakteri yang tumbuh dari pengenceran diambil antara 30–300 koloni. Parameter pengamatan meliputi bentuk koloni, warna koloni dan jumlah koloni BAL.

Pengujian Aktivitas BAL Terhadap Bakteri Patogen

Media MHA dituang ke dalam 6 cawan petri dan dibiarkan hingga media padat. Biakan bakteri patogen (*E. coli*) diambil menggunakan *cotton bud swab* steril, kemudian digores ke media MHA sampai memenuhi seluruh permukaan media. Selanjutnya diambil 1 ose biakan BAL, kemudian ditotol diatas permukaan media MHA yang permukaannya terdapat *E.coli*, diinkubasi selama 120 jam pada suhu 37°C . Diameter zona bening yang terbentuk dan koloni bakteri diukur dengan menggunakan penggaris atau mistar (Sumual *et al.*, 2019).

Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh dianalisis secara deskriptif yaitu dengan memvisualisasikan data menggunakan grafik, tabel dan gambar. Besarnya kemampuan aktifitas BAL menghambat bakteri patogen dilakukan dengan mengukur diameter zona bening dan koloni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada umumnya ayam Kampung yang dipelihara terdiri atas tiga cara yaitu, tradisional atau ekstensif, semi-intensif dan intensif. Pemeliharaan secara ekstensif membutuhkan pekarangan luas agar ayam Kampung dapat mencari makan sendiri atau dibiarkan hidup bebas secara alami, berkembang biak (mengerami telur) dan saat petang bertengger di atas pohon (Henuk & Bakti, 2018). Sistem semi-intensif merupakan model pemeliharaan dengan membuat kandang terbuka, pemberian pakan dan minum secara teratur tetapi pemberian vaksin ataupun obat bukan hal yang rutin dilakukan (Muladno, 2008). Selanjutnya sistem pemeliharaan secara intensif merupakan pemeliharaan yang dilakukan secara profesional dengan membuat kandang khusus atau tertutup dan sangat memperhatikan kebersihan kandang, kualitas sanitasi, keseimbangan nutrisi pakan serta pemberian vaksin dan obat-obatan (Suprayogi *et al.*, 2018; Ismoyowati & Setianto, 2021).

Ayam Kampung yang dipelihara di pekarangan cenderung memiliki adaptasi yang lebih tinggi terhadap tekanan lingkungan misalnya penyakit menular berbeda dengan ayam yang dipelihara secara intensif untuk memeliharanya agar terhindar dari penyakit maka biasanya diberikan tambahan antimikroba dalam pakan dan air (Hedman *et al.*, 2020).

Walaupun pemeliharaan secara ekstensif memberikan keuntungan dari segi biaya pemeliharaan yang lebih murah tetapi tidak memberikan keuntungan dari segi produksi. Berbeda dengan ayam Kampung yang dipelihara secara intensif pertumbuhannya lebih tinggi dengan masa pemeliharaan relatif lebih singkat (Suprayogi *et al.*, 2018), produksi telur lebih meningkat, kematian anak ayam (teknik pisah induk) lebih rendah dan bobot ayam bertambah (Wati, 2007).

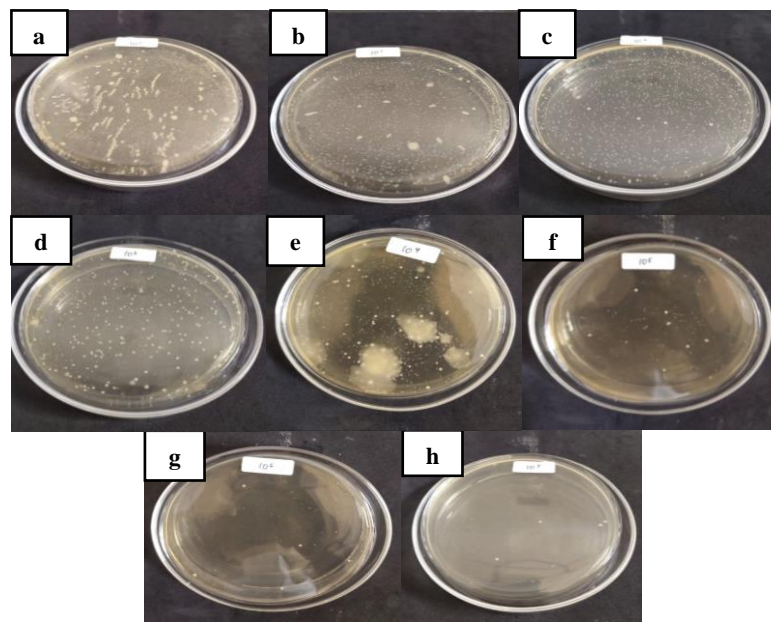
Isolasi bakteri yang dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu menginokulasikan usus ayam ke dalam larutan fisiologis, pengenceran sampai 10^7 dan penanaman suspensi bakteri ke media MRSA sampai didapatkan biakan bakteri murni. Tujuan dilakukannya isolasi mikroba yaitu untuk mendapatkan kultur murni mikroba yang diinginkan tanpa kontaminasi mikroba lainnya (Sumarsih *et al.*, 2012). Kultur murni mikroba didapatkan sampai terbentuknya koloni tunggal atau tumbuhnya secara terpisah (Putri & Kusdiyantini, 2018). Pemurnian kultur didapatkan apabila dilakukan inokulasi ke media secara berulang atau digunakan media spesifik yang dapat menumbuhkan mikroba target. Media MRSA merupakan media spesifik yang memiliki senyawa khusus dan biasanya tidak ditemukan dimedia kultur lainnya sehingga dapat menumbuhkan BAL (de Mesquita *et al.*,

2017). Oleh karena itu penelitian ini digunakan media MRSA untuk mendapatkan bakteri target (BAL) sampai pada pembuatan kultur stok.

Hasil penelitian menunjukkan, isolat bakteri yang diperoleh memiliki penampakan secara makroskopis yaitu koloni berbentuk bulat dan berwarna putih kekuningan (krem)-putih susu (**Gambar 1**). Bentuk koloni BAL telah banyak dilaporkan oleh peneliti bahwa morfologi koloninya bulat, berwarna putih hingga kekuningan dan memiliki tepian halus berwarna bening (Chandra *et al.*, 2007; Nurbaiti *et al.*, 2016; Kurnia *et al.*, 2020).

Gambar 1 menunjukkan pertumbuhan koloni BAL setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam, dihasilkan jumlah koloni yang berbeda setiap pengenceran. Diperoleh cawan petri ke-1 yaitu

pengenceran 10^0 memiliki koloni BAL sejumlah 801, cawan petri ke-2 (10^1), cawan petri ke-3 (10^2), cawan petri ke-4 (10^3), cawan petri ke-5 (10^4), cawan petri ke-6 (10^5), cawan petri ke-7 (10^6), cawan petri ke-8 (10^7) secara berturut-turut diperoleh sejumlah 693, 483, 132, 61, 29, 16 dan 13 koloni. Perhitungan total bakteri diambil antara 30-300 koloni, sehingga yang berada kisaran jumlah koloni tersebut terdapat pada pengenceran 10^3 dan 10^4 . Hasil akhir perhitungan total koloni BAL yang diisolasi dari usus ayam Kampung diperoleh $3,7 \times 10^5$ CFU/ml (**Tabel 1**). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Widodo *et al.*, (2015) bahwa jumlah koloni BAL yang diisolasi dari usus halus ayam broiler sejumlah $3,0 \times 10^5$ CFU/ml.



Gambar 1. Koloni bakteri asam laktat pada media MRSA: a) pengenceran 10^0 , b) pengenceran 10^1 , c) pengenceran 10^2 , d) pengenceran 10^3 , e) pengenceran 10^4 , f) pengenceran 10^5 , g) pengenceran 10^6 dan h) pengenceran 10^7 .

Trisna dan Wahud (2012) menyatakan bahwa bakteri yang berasal dari saluran pencernaan ayam merupakan jenis bakteri asam laktat. Namun, keberadaan BAL di dalam saluran pencernaan seringkali tidak seimbang diakibatkan pengaruh faktor eksternal

(lingkungan) misalnya temperatur, kelembapan, pemberian probiotik dan perubahan pakan, selain itu dipengaruhi juga kondisi internal misalnya umur ayam dan respon imunitas (Barrow, 1992; Astuti, 2015).

Tabel 1. Jumlah koloni BAL dari sampel usus ayam

Sampel	Jumlah koloni pada pengenceran				CFU/ml
	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	
Usus ayam Kampung	TBUD	132	61	TSUD	3,7 x 10 ⁵

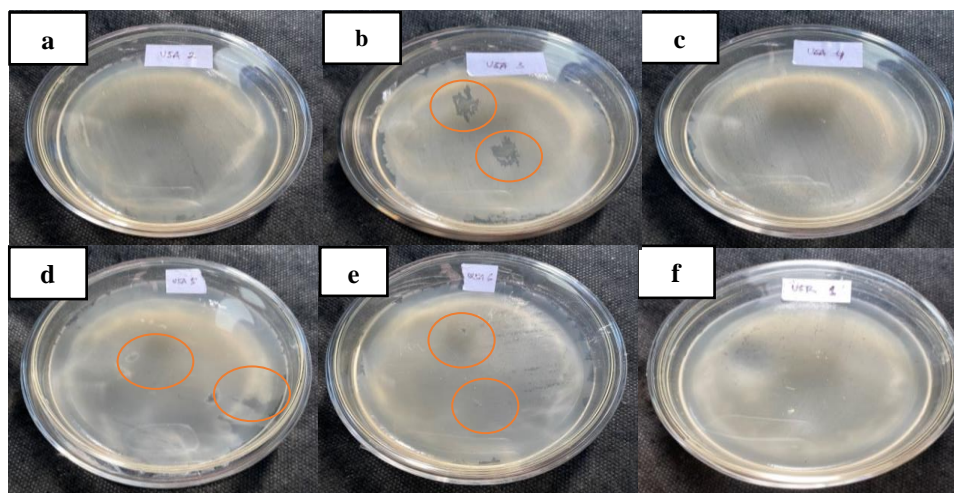
Ket:

TBUD : Terlalu Banyak Untuk Dihitung (>300 CFU/ml)

TSUD : Terlalu Sedikit Untuk Dihitung (<30 CFU/ml)

Kultur biakan murni BAL diperoleh 6 isolat yaitu USA 2, USA 3, USA 4, USA 5, USA 6 dan USR 1. Isolat yang diperoleh kemudian digunakan untuk pengujian daya hambat terhadap bakteri patogen. Pengujian daya hambat terhadap bakteri patogen dilakukan untuk melihat efektivitas BAL dalam mempertahankan mikroflora normal

usus (Fuller, 1992). Bakteri patogen yang digunakan pada penelitian ini yaitu *E. coli*. Penelitian sebelumnya telah banyak melaporkan bahwa bakteri *E. coli* merupakan golongan bakteri gram negatif yang sifatnya lebih sensitif terhadap aktivitas senyawa BAL (Datta *et al.*, 2019).

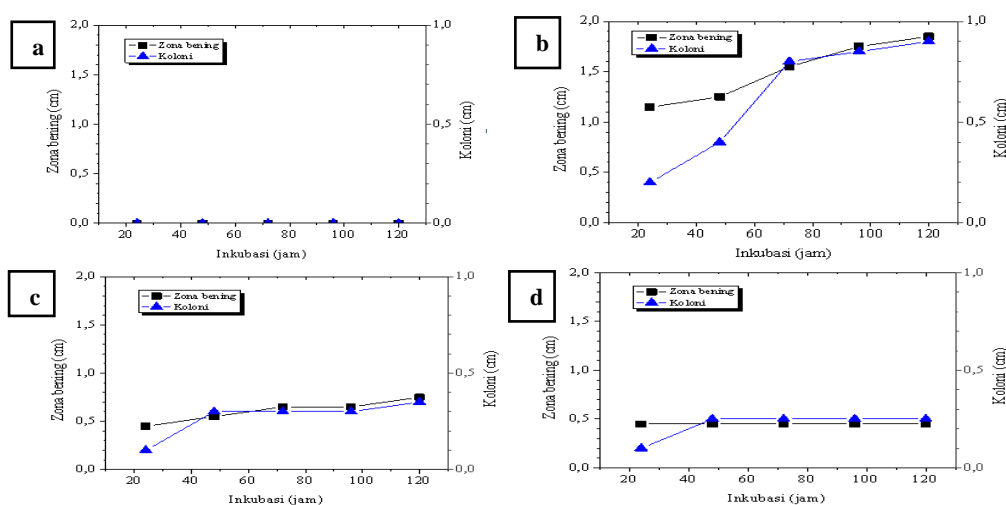


Gambar 2. Uji patogen BAL yang menunjukkan terbentuknya zona bening: a) isolat USA 2, b) isolat USA 3, c) isolat USA 4, d) isolat USA 5, e) isolat USA 6 dan f) isolat USR 1.

Kemampuan isolat BAL memiliki daya hambat terhadap bakteri patogen berbeda-beda, isolat USA 2 setelah inkubasi selama 24 jam-120 jam tidak terbentuk zona bening dan BAL yang ada pada media menjadi kering. Isolat USA 3 memiliki kemampuan daya hambat yang paling baik, terlihat pada **Gambar 2** bahwa isolat USA 3 memiliki zona bening yang paling luas. Isolat USA 4 dan isolat USR 1 tidak berbeda dengan isolat USA 2 yaitu tidak terbentuk zona bening dan inokulum BAL tidak tumbuh, sedangkan media MHA yang terdapat isolat USA 5 dan USA 6 terbentuk zona bening disekeliling koloni.

Saluran pencernaan sangat rentan dipengaruhi oleh bakteri patogen, sehingga keberadaannya dapat ditekan dengan mempertahankan jumlah BAL (Widodo *et al*, 2015). Penelitian dilakukan pengujian

aktivitas BAL sebagai antimikroba dalam melawan bakteri yang sifatnya patogen (Sari *et al.*, 2013). Proses inkubasi dilakukan selama 24, 48, 72, 96 dan 120 jam untuk melihat kemampuan aktivitas BAL terhadap bakteri patogen. Hasil pengujian aktivitas BAL menunjukkan terbentuknya zona bening setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam, isolat USA 3, USA 5 dan USA 6 (**Gambar 3**). Tidak semua isolat menunjukkan kemampuan yang sama, seperti isolat USA 2, USA 4 dan USR 1 tidak terbentuknya zona bening sampai inkubasi 120 jam. Zona bening yang terbentuk merupakan kalsium laktat yang diproduksi oleh BAL. Terbentuknya zona bening berbeda-beda tiap isolat karena tergantung dari aktivitas bakteri dalam memanfaatkan nutrisi media dan konsentrasi bakteriosin yang terbentuk (Ramadhon *et al.*, 2012).



Gambar 3. Grafik daya hambat dan ukuran koloni BAL yang terbentuk setelah inkubasi 24, 48, 72, 96 dan 120 jam: a) isolat USA 2, USA 4, USR 1; b) isolat USA 3; c) isolat USA 5 dan d) isolat USA 6.

Pertumbuhan koloni BAL juga mempengaruhi terbentuknya zona bening, dapat dilihat pada **Gambar 3**. Semakin meningkat pertumbuhan koloni, maka zona bening yang terbentuk akan semakin luas. Koloni USA 3 (**Gambar 3b**) memiliki ukuran isolat yang paling besar yaitu 0,90 cm setelah 120 jam inkubasi, selanjutnya isolat USA 5 yaitu 0,35 cm (**Gambar 3c**) dan isolat USA 6 ukuran koloninya 0,25 cm (**Gambar 3d**). Berbeda dengan isolat USA 2, USA 4 dan USA 1 yaitu bakteri BAL yang diinokulasikan tidak tumbuh di media MHA (**Gambar 3a**).

Aktivitas BAL yang mengeluarkan senyawa bakteriosin terhadap bakteri patogen, dipengaruhi juga struktur dinding sel bakteri patogen yang digunakan. Golongan bakteri gram negatif memiliki struktur lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dan memiliki lipid yang lebih banyak dibandingkan golongan bakteri gram positif. Kandungan lipid yang lebih banyak ini akan menyebabkan bakteri patogen lebih sensitif terhadap bakteriosin sehingga BAL dengan mudah masuk ke dalam sel bakteri patogen (Prescott *et al.*, 2002; Rahmah *et al.*, 2017).

Mikroflora di dalam usus ayam sangat berperan penting dalam menghasilkan enzim yang membantu proses pencernaan. Kemampuan enzim ini

dapat memecah serat kasar yang sangat sulit dicerna dalam saluran pencernaan unggas. Hal yang sama dilaporkan oleh Yeh *et al.*, (2018) menyatakan bahwa mikroflora dapat mengubah senyawa menjadi komponen yang lebih efektif seperti senyawa yang mengandung nitrogen, asam amino, peptida atau asam lemak selama proses fermentasi.

SIMPULAN

Berdasarkan pembahasan diatas, maka dapat disimpulkan bahwa isolasi BAL dari sampel usus ayam Kampung diperoleh BAL yang memiliki bentuk koloni bulat dan berwarna putih kekuningan (kream)–putih susu, jumlah koloni $3,7 \times 10^5$ CFU/ml dan memiliki kemampuan daya hambat bakteri patogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, I. (2006). Effect of probiotics on broilers performance. *International Journal of Poultry Science*, 5, 593-597.
- Amin, H., Saida., Suriyanti., Suherah., Mahir, S., & Gani. (2018). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Probiotik Pendegradasi Senyawa Organik Dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung (*Gallus domesticus*). *Jurnal AGrotekMAS*, 75-81.
- Ashraf, R., & Shah, N. P. (2014). Immune system stimulation by probiotic microorganisms. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 54(7), 938-956.

- Astuti. (2015). Pemanfaatan Probiotik Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Ikan Terhadap Pertumbuhan dan Kadar Kolesterol Daging Ayam Broiler. *Jurnal Penelitian Saintek*, 20(2), 157-165.
- Barrow, P. A. (1992). *Probiotic for chickens in Probiotics The Scientific Basis*, Edited by Roy Fuller. London: Chapman and Hall.
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria: their applications in foods. *J Bacteriol Mycol*, 6(2), 89-94.
- Chandra, J. I., Zahiruddin, W., & Desniar. (2007). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Produk Bekasam Ikan Bandeng (*Chanos chanos*). *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 10(2), 14-24.
- Chim-anage, P., Hirunvong, V., Sirote, P., Malaphan, W., Yongsmith, B., Isariyodom, S., Tirawattanawanich, C., Chitanont, W., & Talsook, P. (2008). Effect of Feed Supplementation of Lactic Acid Bacteria on Microbial Changes in Broiler Intestine. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*, 42, 269-276.
- Chotiah, S., & Damayanti, R. (2018). Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik untuk Mengatasi Salmonellosis pada Ayam Pedaging. *Bul. Plasma Nutrafah*, 24(2), 89-96.
- Colombo, M., Castilho, N. P. A., Todorov, S. D., & Nero, L. A. (2018). Beneficial properties of lactic acid bacteria naturally present in dairy production. *BMC Microbiology*, 18, 219.
- Datta, F. U., Daki, A. N., Benu, I., Detha, A. I. R., Foeh, N. D. F. K., & Ndaong, N. A. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Cairan Rumen Terhadap Pertumbuhan *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Menggunakan Metode Difusi sumur Agar. *Prosiding Seminar Nasional VII Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana*, 66-85.
- De Mesquita, A. R. C., Costa, C. R. R., Frutuoso, J. I. O., Mota, A., Franchitti, A. A., & Ximenes, E. A. (2017). Activity of metabolites produced by new strains of *Lactobacillus* in modified de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) medium against multidrug-resistant bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 11(8), 345-355.
- Fuller, R. (1992). *Probiotics the Scientific Basis*. London: Chapman and Hall.
- Hedman, H. D., Vasco, K. A., & Zhang, L. (2020). A Review of Antimicrobial Resistance in Poultry Farming within Low-Resource Settings. *Animals*, 10(8), 1-35.
- Henuk, Y. L., & Bakti, D. (2018). Benefits of Promoting Native Chickens for Sustainable Rural Poultry Development in Indonesia. *TALENTA Conference Series: Agricultural & Natural Resources (ANR)*, 1, 1-8.
- Ismoyowati, & Setianto, N. A. (2021). The dynamics of population and production of Native Chicken under extensive and semi-intensive maintenance. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Kurnia, M., Amir, H., & Handayani, D. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Makanan Tradisional Suku Rejan di Provinsi Bengkulu: "Lemea". *ALOTROP: Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 4(1), 25-32.
- Lisnahan, C. V., Wihandoyo., Zuprizal., & Harimurti, S. (2018). Pengaruh Suplementasi DL-Metionin Dan L-Lisin Hcl Pada Pakan Standar Kafetaria Terhadap Berat Badan, Organ Dalam Dan Organ Reproduksi Ayam Kampung Fase Pullet. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 6(2), 128-133.

- Madingan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2009). *Biology of Microorganism Edisi 12th*. New York: Prentice Hall Internasional.
- Mathur, H., Beresford, T. P., & Cotter, P. D. (2020). Health Benefits of Lactic Acid Bacteria (LAB) Fermentates. *Nutrients*, 12, 1679.
- Messaoudi, S., Kergourlay, G., Rossero, A., Ferchichi, M., Prévost, H., Drider, D., Manai, M., & Dousset, X. (2011). Identification of lactobacilli residing in chicken ceca with antagonism against *Campylobacter*. *International Microbiology*, 14, 103-110.
- Muladno. (2008). Native chicken genetic resources and production systems in Indonesia. GCP/RAS/228/GER Working Paper No. 6. Rome.
- Musikasang. H., Tani, A., H-kittikun, A., & Maneerat, S. (2009). Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive trac. *World J Microbiol Biotechnol*, 25, 1337–1345.
- Nurbaiti, Rosyidi, A., & Ali, M. (2016). Skrening Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Usus Ayam Broiler sebagai Kandidat Probiotik untuk Unggas. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia*, 2(1), 144-149.
- Nurcahyo, H., Yulianti, E., Hasanah, H., Ariyanti, D. D., & Saputri, P. (2017). Isolasi Bakteri Kandidat Probiotik Dari Isi Usus Halus Ayam Kampung Untuk Meningkatkan Produktivitas Ayam Pedaging. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Biologi Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta*.
- Permana, P. A., Yuniarto, V. D., & Atmomarsono, U. (2014). Pengaruh Taraf Protein Dan Lisin Ransum Terhadap Performans Produksi Ayam Kampung. *Animal Agriculture Journal*, 3(2), 113-120.
- Prescott, L. M., Horley, J. P., & Klein, D. A. (2002). *Microbiology 5th Edition*. Boston: Mc Graw-Hill.
- Putri, A. L. O., & Kusdiyantini E. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia, *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6-12.
- Ramadhon, Subagiyo, & Margino, S. (2012). Isolasi dan Karakterisasi bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Sainstek Perikanan*, 8(1), 59-64.
- Rahmah, R. P. A., Bahar, M., & Harjono, Y. (2017). Uji Daya Hambat Filtrat Zat Metabolit Lactobacillus Plantarum Terhadap Pertumbuhan Shigella Dysenteriae Secara In Vitro. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 5(1), 34-41.
- Sari, M. L., Arfan, A., & Merint. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Usus Ayam Broiler. *Agripet*, 13(1), 43-48.
- Shazali, N., Loh, T. C., Foo, H. L., & Samsudin, A. A. (2019). Gut microflora and intestinal morphology changes of broiler chickens fed reducing dietary protein supplemented with lysine, methionine, and threonine in tropical environment. *Brazilian Journal of Animal Science*, 1-15.
- Sumarsih, S., Sulistiyanto, B., Sutrisno, C. I., & Rahayu, E. S. (2012). Peran Probiotik Bakteri Asam Laktat Terhadap Produktivitas Unggas. *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*, 10(1), 1-9.
- Sumual, A. M., Fatimawali., & Tallei, T. E. (2019). Uji Antibakteri dari Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Selada Romain (*Letuca sativa* var. *longifolia* Lam.). *Pharmacon*, 8(2), 306-314.

- Suprayogi, W. P. S., Riptanti, E. W., & Widyawati, S. D. (2018). Budidaya Ayam Kampung Intensif Melalui Program Pengembangan Usaha Inovasi Kampus. *Inoteks*, 22(1), 18-27.
- Trisna., & Wahud, N. (2012). Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Pemberian Probiotik Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Dadih dari Kabupaten Sijunjung Terhadap Kadar Kolestrol Daging pada Itik Pitalah Sumber Daya Genetik Sumatra Barat. Artikel. Universitas Andalas. Padang.
- Wati, R. (2007). Potensi Peternakan Ayam Buras Sebagai Usaha Ekonomi Masyarakat Pedesaan Di Provinsi Sumatera Barat. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 12(2), 124-135.
- Widodo, T. S., Sulistiyanto, S., & Utama, C. S. (2015). Jumlah Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Digesta Usus Halus dan Sekum Ayam Broiler yang Diberi Pakan Ceceran Pabrik Pakan yang Difermentasi. *Agripet*, 15(2), 98-103.
- Yeh, R. H., Hsieh, C. W., & Chen, K. L. (2018). Screening lactic acid bacteria to manufacture two-stage fermented feed and pelleting to investigate the feeding effect on broilers. *Poultry Science*, 97, 236-246.