



Submitted Date: May 10, 2023

Accepted Date: September 3, 2023

Editor-Reviewer Article: Eny Puspani & Dsk, Pt. Mas Ari Candrawati

ISOLASI DAN SELEKSI KANDIDAT ISOLAT BAKTERI PROBIOTIK SELULOLITIK DARI USUS BESAR BABI BALI

Pande, I G., I M. Mudita, dan I G.L.O. Cakra

PS. Sarjana Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Denpasar, Bali
e-mail: igedepande@student.unud.ac.id , Telp. +62 882-3615-1161

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menyeleksi isolat kandidat bakteri probiotik selulolitik unggul dengan kemampuan degradasi dan aktivitas antimikroba tinggi dari usus besar babi bali. 14 isolat bakteri selulolitik murni yang diperoleh dari usus besar babi bali diseleksi lebih lanjut untuk memperoleh isolat kandidat bakteri probiotik selulolitik melalui uji kemampuan sebagai kandidat probiotik yaitu uji kemampuan tumbuh pada berbagai variasi suhu (10, 25, 40, 55°C), pH (3,5; 4,5; 5,5; 6,5; 8,0), dan garam empedu (10, 20, 30 µl). Isolat yang mampu tumbuh pada berbagai variasi suhu, pH dan garam empedu dikategorikan sebagai kandidat bakteri probiotik selulolitik. Seleksi kualitas isolat kandidat bakteri probiotik selulolitik didasarkan kepada kemampuan degradasi substrat (CMC) dan kemampuan daya hambat terhadap mikroba patogen (*E. coli*). Semua kegiatan dilakukan dengan 4 kali pengulangan untuk memperoleh hasil yang representatif. Terdapat 5 isolat bakteri selulolitik dengan kode A5, A11, B2, C11, dan C12 menunjukkan pertumbuhan pada berbagai variasi suhu, pH, dan garam empedu, sehingga dapat dikategorikan sebagai kandidat probiotik. Berdasarkan uji kemampuan degradasi substrat diperoleh zona bening yang memiliki diameter terlebar dimiliki oleh isolat dengan kode C12 pada substrat CMC. Sementara pada uji aktivitas antimikroba zona bening terlebar dihasilkan oleh isolat dengan kode C11. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh 5 kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik dari usus besar babi bali serta isolat dengan kode C11 dan C12 memiliki kemampuan degradasi substrat dan aktivitas antimikroba lebih tinggi dari isolat lainnya.

Kata kunci: *bakteri probiotik selulolitik, babi bali, degradasi substrat, aktivitas antimikroba*

ISOLATION AND SELECTION OF CANDIDATES ISOLATE CELLULOLYTIC PROBIOTIC BACTERIA FROM THE LARGE INTESTINE OF BALI PIGS

ABSTRACT

This research aims to isolate and select superior cellulolytic probiotic bacteria candidates with high degradation ability and antimicrobial activity from the large intestine of Bali pigs. 14 isolates of pure cellulolytic bacteria obtained from the large intestine of Bali pigs were further

selected to obtain probiotic cellulolytic bacteria candidate isolates through a test of ability as a probiotic candidate, namely a test of the ability to grow at various temperature variations (10, 25, 40, 55°C), pH (3.5; 4.5; 5.5; 6.5; 8.0), and bile salts (10, 20, 30 µl). Isolates that can grow at various temperatures, pH, and bile salts are categorized as candidates for cellulolytic probiotic bacteria. The quality selection of candidate isolates of cellulolytic probiotic bacteria is based on the ability of substrate degradation (CMC) and the ability to inhibition against pathogenic microbes (*E. coli*). All activities were carried out with 4 repetitions to obtain representative results. There were 5 isolates of cellulolytic bacteria with codes A5, A11, B2, C11, and C12 which showed growth at various temperatures, pH, and bile salts, so they could be categorized as probiotic candidates. Based on the substrate degradation ability test, the clear zone with the widest diameter was obtained by the isolate with code C12 on the CMC substrate. While in the antimicrobial activity test the widest clear zone was produced by isolate with code C11. Based on the results of the study, 5 candidate isolates of cellulolytic probiotic bacteria from the large intestine of Bali pigs and isolates with codes C11 and C12 could degrade substrates and have higher antimicrobial activity than other isolates.

Keywords: *cellulolytic probiotic bacteria, Bali pig, substrate degradation, antimicrobial activity*

PENDAHULUAN

Babi bali merupakan plasma nutfah asli Bali yang diduga berasal dari babi liar (*Sus vitatus*) (Sumardani dan Ardika, 2016). Babi bali memiliki segmen pasar/konsumen khusus terutama terkait pemanfaatannya sebagai sarana & prasarana upacara adat dan/atau agama maupun kebutuhan konsumsi untuk pembuatan babi guling. Tingginya permintaan konsumen untuk menggunakan babi bali menimbulkan kesulitan industri untuk menyediakan bahan baku (Sriyani dan Ariana, 2016). Salah satu permasalahan yang terdapat pada pemeliharaan babi bali adalah performa produksi/pertumbuhan yang relatif lebih rendah daripada bangsa babi ras impor (Budaarsa *et al.*, 2016). Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dari ternak adalah faktor lingkungan.

Faktor lingkungan merupakan faktor utama yang menentukan produktivitas ternak, selain faktor genetik. Diantara beberapa faktor lingkungan, salah satu yang dapat dimanipulasi adalah pakan (Tulung *et al.*, 2015). FCR (*Feed Conversion Ratio*) atau konversi pakan merupakan gambaran tingkat efisiensi pakan selama pemeliharaan. Konversi pakan yang efisien sangat ditentukan oleh pencernaan pakan yang diberikan (Puger *et al.*, 2015). Peternakan babi bali umumnya memanfaatkan sisa-sisa dapur, daun-daunan, batang pisang, dedak padi dan bungkil kelapa sebagai pakan (Sumadi *et al.*, 2016). Bahan-bahan tersebut merupakan bahan pakan dengan kandungan serat kasar (selulosa) yang tinggi, hal tersebut berpengaruh pada rendahnya

tingkat efisiensi pakan pada ternak monogastrik seperti babi bali. Salah satu metode meningkatkan efisiensi pakan serta produktivitas ternak adalah dengan penggunaan *agent growth promoter*/AGP sehat alami, yaitu probiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan (Fitasari dan Afrila, 2015).

Terdapat berbagai mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai probiotik, salah satunya adalah bakteri selulolitik yang mampu menghasilkan enzim selulase untuk menghidrolisis serat selulosa pakan ternak menjadi produk lebih sederhana yaitu glukosa. Beberapa penelitian mengkonfirmasi efek menguntungkan dari penggunaan bakteri jenis ini dalam meningkatkan kualitas nutrisi pakan ternak, meningkatkan degradasi serat serta menurunkan antinutrisi dan patogen pakan, membantu proses pencernaan dan penyerapan pakan, meningkatkan produktivitas dan kesehatan ternak (Bhat, 2000; Asmare, 2014; Mudita *et al.*, 2019^{a,b}; 2020^{a,b}).

Babi bali yang umumnya dipelihara secara tradisional dengan pakan mengandung hijauan segar, potensial sebagai sumber isolat bakteri probiotik selulolitik yang dapat dimanfaatkan sebagai “*agent growth promoter*/AGP” dalam upaya optimalisasi produktivitas ternak babi bali itu sendiri maupun ternak lainnya. Isolasi bakteri dari saluran cerna ternak itu sendiri khususnya dari bagian usus besar/kolon merupakan sumber mikroorganisme yang terbukti mampu bertahan hidup melewati saluran cerna sebelumnya yang memiliki karakteristik spesifik, yaitu melewati bagian lambung yang mempunyai pH rendah sebagai akibat adanya asam lambung/HCL, serta melewati usus duabelas jari/duodenum yang mendapatkan sekresi getah empedu yang mempunyai pH basa (pH 8 – 9), sehingga potensial berperan sebagai probiotik bagi ternak babi. Betancur *et al.* (2020) mengungkapkan pemanfaatan probiotik yang bersumber dari inang akan menjadi probiotik yang lebih efektif daripada probiotik dari sumber lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menyeleksi kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik unggul dengan kemampuan degradasi dan aktivitas antimikroba tinggi dari usus besar babi bali.

MATERI DAN METODE

Materi

Sumber isolat bakteri (isi usus besar babi bali) diambil dari daerah tempat pengembangbiakan babi bali yaitu daerah Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng, Bali. Peralatan yang digunakan adalah *laminar air flow*, *water bath*, pH meter, inkubator, pipet/mikropipet otomatis, pengaduk magnetik/*vortex*, *stirer*, autoklaf, *centrifuge*, mikroskop,

spectrophotometer uv-vis, haemocytometer, kamera, jangka sorong, lemari pendingin, berbagai peralatan plastik seperti wadah sampel, toples plastik, nampan plastik, tabung plastik untuk tempat penyimpanan stok isolat bakteri, dan berbagai peralatan gelas/*glasware*. Bahan/sarana yang digunakan pada penelitian ini meliputi sampel isi saluran cerna (isi usus) babi bali sebagai sumber isolat bakteri, NaCl 0,85 – 0,9%, alkohol 70%, spritus, aquades, medium pertumbuhan bakteri probiotik cair dan padat (Nutrient broth dan Nutrient Agar), Substrat selulolitik (Carboxymethylcellulose/CMC), buffer asetat (Natrium asetat dan asam asetat), Natrium dioksikolat/NaDC, KIT-reagen untuk uji morfologi.

Waktu, tempat, dan rancangan penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola sederhana dengan jumlah perlakuan berdasarkan jumlah isolat yang diperoleh dan 4 ulangan.

Pengambilan dan preparasi sumber isolat

Sampel isi usus besar babi bali diambil dari Desa Gerokgak, Buleleng menggunakan wadah plastik steril berpenutup. Sampel yang telah diambil segera dibawa ke laboratorium untuk dipreparasi. Di laboratorium, preparasi sampel sumber isolat dilakukan dengan cara mengaliri sampel dengan gas CO₂ dan dilanjutkan dengan inkubasi sampel dalam inkubator dengan suhu 37,5°C selama 15 menit (McDonald *et al.*, 2012; Mudita *et al.*, 2019^{a,b}; 2020^{a,b}).

Pengenceran sampel

Sampel sumber isolat bakteri diencerkan dengan larutan NaCl 0,85 – 0,9%. Pengenceran pertama (10⁻¹) dilakukan dengan menambahkan 45 ml larutan pengencer (NaCl fisiologi 0,85 – 0,9%) kedalam 5 g sampel sambil dialiri gas CO₂. Larutan 10⁻¹ divortek selama 5 menit. Selanjutnya diencerkan kembali dengan menganbil 1 ml larutan pada pengenceran 10⁻¹ untuk dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah diisi NaCl fisiologis sebanyak 9 ml untuk dijadikan larutan dengan pengenceran menjadi 10⁻², demikian terus berlanjut hingga pengenceran 10⁻⁸. Sampel pada larutan pengenceran 10⁻⁶ – 10⁻⁸ dipakai untuk kegiatan isolasi bakteri selanjutnya (McDonald *et al.*, 2012; Mudita *et al.*, 2019^{a,b}; 2020^{a,b}).

Pembuatan medium pertumbuhan selektif bakteri selulolitik

Medium pertumbuhan selektif bakteri selulolitik dibuat menggunakan medium Nutrient Agar yang ditambahkan dengan substrat selulosa (CMC) sebanyak 0,5 g/100 ml medium. Penghomogenan medium dilakukan dengan cara memvortex medium selektif selama 15 menit

menggunakan magnetik stirer pada suhu 100°C, dan selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (McDonald *et al.*, 2012; Mudita *et al.*, 2019^{a,b}; 2020^{a,b}).

Isolasi bakteri selulolitik

Isolasi bakteri selulolitik dilakukan dengan cara terlebih dahulu mengkultur sumber isolat/mikroba pada medium pertumbuhan selektif padat menggunakan metode Hungate, dimana 1 ml larutan mikroba dalam pengencer 10⁻⁶-10⁻⁸ diinokulasikan segera ke dalam cawan petri steril yang selanjutnya diisi medium pertumbuhan selektif dan dihomogenkan dengan cara menggoyang beberapa kali diatas lantai *laminar air flow* menyerupai angka 8. Kemudian cawan petri yang telah berisi bakalan isolat bakteri dibiarkan dalam suhu ruang sambil sampai kondisi agar memadat. Kultur dalam cawan petri selanjutnya dimasukkan kedalam toples plastik steril sambil dalam kondisi anaerob (tanpa oksigen). Dilanjutkan dengan inkubasi pada inkubator pada T 37,5°C selama 3 hari dalam kondisi anaerob. Koloni bakteri yang tumbuh, selanjutnya dimurnikan (McDonald *et al.*, 2012; Mudita *et al.*, 2019^{a,b}; 2020^{a,b}).

Pemurnian isolat bakteri selulolitik

Kegiatan pemurnian isolat bakteri dilakukan untuk memperoleh isolat tunggal/hanya terdiri dari satu jenis bakteri. Kegiatan pemurnian isolat bakteri dilaksanakan dengan cara, yaitu koloni bakteri yang tumbuh pada medium pertumbuhan padat cawan petri secara individual dipilih dan dipindahkan kembali kedalam medium pertumbuhan padat cawan petri dengan metode *overlay*. Pemandahan koloni bakteri dilakukan dalam laminar air flow menggunakan ose/kawat iridium platinum berujung bulat dengan metode *streak quadrant* dalam kondisi anaerob. Cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37,5°C selama 3 – 5 hari dalam kondisi anaerob. Koloni bakteri yang tumbuh yang secara visual/kasat mata menunjukkan koloni tunggal dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi medium pertumbuhan bakteri untuk diinkubasi kembali dan dievaluasi kemurniannya dengan teknik pengecatan gram melalui pengamatan morfologi sel dan sifat gram dari isolat bakteri yang telah diperoleh. Isolat bakteri yang telah murni dipilah, sedangkan yang belum, dimurnikan kembali dengan metode *streak quadrant* (McDonald *et al.*, 2012; Mudita *et al.*, 2019^{a,b}; 2020^{a,b}). Isolat murni yang diperoleh dianalisis lebih lanjut untuk penentuan peranannya sebagai kandidat probiotik.

Seleksi kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik

Isolat murni yang diperoleh diseleksi lebih lanjut untuk memperoleh kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik melalui uji kemampuan sebagai agen probiotik yaitu uji kemampuan tumbuh pada berbagai variasi suhu, pH dan garam empedu. Isolat yang mampu tumbuh pada berbagai variasi suhu, pH dan garam empedu dikategorikan sebagai kandidat bakteri probiotik

selulolitik (Mudita *et al.*, 2019^{a,b}; 2020^{a,b}). Semua kegiatan dilakukan dengan 4 kali pengulangan untuk memperoleh hasil yang representatif.

Seleksi kualitas kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik

Seleksi kualitas kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik didasarkan kepada kemampuan degradasi substrat selulosa dan kemampuan daya hambat terhadap mikroba patogen. Kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik murni yang dipakai pada kegiatan ini terlebih dahulu ditumbuhkan pada medium cair Nutrient Broth dengan waktu inkubasi 3 hari. Kultur isolat bakteri yang telah tumbuh selanjutnya dimanfaatkan untuk kegiatan seleksi isolat bakteri unggul (Mudita *et al.*, 2019^{a,b}; 2020^{a,b}). Semua kegiatan akan dilakukan dengan 4 kali ulangan untuk memperoleh hasil yang representatif.

Analisis statistik

Data yang dihasilkan dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dan apabila terdapat nilai berbeda nyata ($P < 0,05$) dilanjutkan dengan uji beda nyata jujur/*Honestly Significant Different* (Sastrosupadi, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining isolat bakteri selulolitik

Morfologis bakteri hasil isolasi dibedakan karakternya berdasarkan pengamatan warna koloni, tepian koloni, dan elevasi koloni (Hadioetomo, 1993). Inkubasi bakteri setelah 48 jam didapatkan hasil pengenceran 10^{-6} hingga 10^{-8} secara berturut yaitu sebanyak 3 koloni, 2 koloni, dan 9 koloni bakteri. Koloni bakteri yang tumbuh pada media CMC hasil pengenceran bertingkat 10^{-6} hingga 10^{-8} dibedakan berdasarkan warna koloni, tepian koloni, bentuk sel, serta jenis gram yang serupa, didapatkan 14 jenis isolat bakteri berbeda yaitu A1, A5, A11, B2, B3, C3, C7, C8, C11, C12, C15, C20, C22, dan C25. Isolat bakteri dapat tumbuh pada substrat yang mengandung CMC, menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh dapat menggunakan selulosa sebagai suplai nutrisi terutama suplai karbon (Alam *et al.*, 2004). Seluruh isolat ini kemudian dievaluasi kemampuannya sebagai kandidat probiotik melalui kemampuan tumbuh pada berbagai variasi suhu, pH, dan garam empedu.

Tabel 1. Hasil skrining isolat bakteri selulolitik dari usus besar babi bali

Kode Isolat	Warna Koloni	Tepi Koloni	Bentuk Sel	Gram
A1	Putih kekuningan	Bergelombang	<i>Coccus</i>	-
A5	Putih kekuningan	Licin	<i>Bacill</i>	+
A11	Putih susu	Licin	<i>Bacill</i>	+
B2	Krem	Licin	<i>Bacill</i>	+
B3	Putih kekuningan	Bergelombang	<i>Coccus</i>	+
C3	Kekuningan	Bergelombang	<i>Coccus</i>	-
C7	Kekuningan	Licin	<i>Bacill</i>	+
C8	Putih kekuningan	Bergelombang	<i>Bacill</i>	+
C11	Putih susu	Licin	<i>Bacill</i>	+
C12	Putih susu	Licin	<i>Bacill</i>	-
C15	Kehijauan	Licin	<i>Coccus</i>	-
C20	Kehijauan	Bergelombang	<i>Coccus</i>	-
C22	Putih susu	Licin	<i>Coccus</i>	-
C25	Kekuningan	Licin	<i>Bacill</i>	+

Kemampuan tumbuh pada berbagai variasi suhu

Suhu merupakan salah satu faktor penting lainnya yang mempengaruhi ketahanan hidup bakteri. Suhu tersebut terkait apabila isolat bakteri akan diaplikasikan dalam pembuatan suatu produk yang berkorelasi dengan masa simpan. Bakteri yang tumbuh pada suhu yang bervariasi juga akan menghasilkan produk metabolit yang bervariasi pula. Hasil pengujian isolat bakteri selulolitik dari usus besar babi bali pada variasi suhu lingkungan dapat dilihat pada Tabel 2a dan 2b.

Hasil pengujian kemampuan tumbuh pada berbagai suhu menunjukkan 14 isolat bakteri selulolitik dari usus besar babi bali memiliki kemampuan tumbuh yang berbeda-beda pada suhu 10, 25, 40 dan 55°C (Tabel 2a dan 2b). Semua isolat bakteri uji memiliki kemampuan tumbuh dengan baik pada suhu 10, 25, dan 40°C, tetapi terdapat beberapa isolat yang tidak mampu tumbuh pada suhu 55°C.

Tabel 2a. Kemampuan tumbuh bakteri selulolitik dari usus besar babi bali pada berbagai variasi suhu (10 – 25°C)

Kode Isolat ¹	Kemampuan Tumbuh pada Berbagai Variasi Suhu (abs) ²					
	10°C			25°C		
	0 Jam	24 Jam	48 Jam	0 Jam	24 Jam	48 Jam
A1	0,115a ³	0,444a	0,689ab	0,115a	0,909ab	1,082ab
A5	0,115a	0,150d	0,261de	0,115a	0,908ab	1,177ab
A11	0,115a	0,125d	0,179e	0,115a	0,851abc	1,129ab
B2	0,115a	0,151d	0,267de	0,116a	0,377de	0,890bc
B3	0,115a	0,158d	0,246de	0,116a	0,674abcd	1,186ab
C3	0,116a	0,145d	0,206e	0,115a	0,588cde	1,116ab
C7	0,115a	0,189d	0,309cde	0,115a	0,584cde	1,222a
C8	0,116a	0,149d	0,270de	0,115a	0,930a	1,096ab
C11	0,116a	0,161d	0,323cd	0,115a	0,601bcde	1,094ab
C12	0,116a	0,263c	0,389c	0,115a	0,942a	1,203ab
C15	0,116a	0,160d	0,285de	0,115a	0,427de	1,118ab
C20	0,116a	0,133d	0,216e	0,115a	0,324e	0,722c
C22	0,116a	0,438a	0,743a	0,115a	0,914a	1,188ab
C25	0,116a	0,349b	0,602b	0,115a	0,682abcd	1,362a
SEM ⁴	0,0003	0,015	0,025	0,0003	0,034	0,028

Keterangan: ¹Isolat bakteri selulolitik hasil isolasi dari usus besar babi bali, ²Hasil analisis Lab. Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan UNUD, ³Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan nilai yang berbeda tidak nyata ($P > 0,05$), ⁴SEM = Standard Error of The Treatment Means

Setiap organisme termasuk bakteri memiliki kisaran toleransi terhadap parameter-parameter lingkungan, salah satunya suhu. Adanya perubahan suhu memberikan pengaruh terhadap kondisi bakteri secara langsung sehingga akan mengakibatkan munculnya bentuk adaptasi baik dari secara morfologi maupun fisiologi dari bakteri itu sendiri. Masing-masing bakteri memiliki kisaran suhu tertentu untuk kehidupannya, sehingga daya tahan atau ketahanan bakteri terhadap variasi suhu bersifat *dependent* tergantung dari spesies maupun asal bakteri tersebut. Seperti yang dikutip dari Perko (2011) mikroorganisme dapat dibedakan menjadi beberapa kelompok sebagai berikut 1) Psikrofil, merupakan kelompok bakteri yang dapat tumbuh pada suhu antara 0-20°C; 2) Mesofil, merupakan kelompok bakteri yang dapat tumbuh pada suhu 25-40°C; dan 3) Termofil, merupakan kelompok bakteri yang dapat tumbuh pada suhu di atas 50°C. Menurut Pleczar dan Chan (2007) menjelaskan bahwa pertumbuhan bakteri bergantung pada reaksi-reaksi kimiawi dan laju reaksi-reaksi tersebut dipengaruhi oleh suhu terutama reaksi secara enzimatik. Sehingga pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh suhu.

Tabel 2b. Kemampuan tumbuh bakteri selulolitik dari usus besar babi bali pada berbagai variasi suhu (40 – 55°C)

Kode Isolat ¹	Kemampuan Tumbuh pada Berbagai Variasi Suhu (abs) ²					
	40°C			55°C		
	0 Jam	24 Jam	48 Jam	0 Jam	24 Jam	48 Jam
A1	0,115a ³	0,462bc	0,744bcd	0,176a	0,133f	0,122f
A5	0,115a	0,602abc	0,922abc	0,175a	0,253a	0,386a
A11	0,115a	0,747abc	1,129a	0,175a	0,258a	0,391a
B2	0,115a	0,425abc	0,772abcd	0,175a	0,219b	0,309c
B3	0,116a	0,450bc	0,616cd	0,175a	0,103ij	0,091hi
C3	0,115a	0,392c	0,844abcd	0,175a	0,127g	0,120f
C7	0,116a	0,423bc	0,530d	0,175a	0,116h	0,107g
C8	0,116a	0,582abc	0,733bcd	0,176a	0,101jk	0,097gh
C11	0,115a	0,522abc	0,752bcd	0,176a	0,187d	0,367b
C12	0,115a	0,820abc	0,958abc	0,175a	0,201c	0,249d
C15	0,115a	0,667bc	0,902abc	0,176a	0,173e	0,151e
C20	0,115a	0,581abc	0,672bcd	0,176a	0,108i	0,101gh
C22	0,116a	0,921a	0,995ab	0,175a	0,096k	0,081i
C25	0,115a	0,464bc	0,805abcd	0,175a	0,084l	0,083i
SEM ⁴	0,0003	0,033	0,031	0,0003	0,008	0,016

Keterangan: ¹Isolat bakteri selulolitik hasil isolasi dari usus besar babi bali, ²Hasil analisis Lab. Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan UNUD, ³Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan nilai yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$), ⁴SEM=Standard Error of The Treatment Means

Penelitian yang dilakukan oleh Song *et al.*, (2014) berhasil diisolasi bakteri dengan jenis *Bizionia psychrotolerans* sp. dari usus timun laut dengan suhu pertumbuhan optimum dibawah 10°C yang dikatagorikan sebagai bakteri psikrofil. Sementara itu, hasil penelitian Wu *et al.*, (2006) telah berhasil mengisiasi bakteri *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, dan *Bacillus clausii* dari kotoran sapi yang dikatagorikan sebagai bakteri mesofil. Kemudian, Miyamoto *et al.*, (2013) berhasil mengisolasi bakteri jenis *Bacillus thermoamylovorans* dan *Bacillus coagulans* dari usus tikus yang telah mengonsumsi kompos dan mengkatagorikan kedua jenis bakteri tersebut sebagai bakteri termofil.

Isolat bakteri dengan kode C22, A1, dan C25 merupakan bakteri yang tergolong psikrofil karena karena mampu tumbuh pada suhu dibawah 20°C (Tabel 2a dan 2b). Isolat dengan kode C7, C25, dan A11 dapat dikatagorikan sebagai bakteri mesofil dikarenakan suhu optimum pertumbuhannya berada pada rentang suhu 25-40°C (Tabel 2a dan 2b). Isolat bakteri dengan kode A5, A11, B2, C11, dan C12 dapat masuk katagori bakteri termofil karena mampu tumbuh dengan baik pada suhu diatas 50°C (Tabel 2a dan 2b).

Kemampuan tumbuh pada berbagai variasi pH

Salah satu syarat strain bakteri probiotik adalah strain yang mempunyai kemampuan yang sesuai dengan kondisi saluran pencernaan yaitu strain harus dapat bertahan hidup dalam saluran pencernaan setelah melewati lambung, dengan kata lain probiotik haruslah tahan terhadap asam dan garam-garam empedu apabila dikonsumsi oleh ternak (Zurmiati *et al.*, 2014). Hasil uji ketahanan terhadap berbagai variasi pH dapat dilihat pada Tabel 3a dan 3b.

Berdasarkan Tabel 3a dan 3b dapat diketahui bahwa isolat bakteri selulolitik dari usus besar babi bali mempunyai ketahanan terhadap berbagai pH yang cukup besar meskipun terdapat beberapa isolat yang tidak mengalami pertumbuhan pada pH rendah (< pH 7). Hal ini menunjukkan bahwa beberapa isolat bakteri selulolitik asal usus besar babi bali mampu bertahan ketika melewati lambung babi yang memiliki pH 3,5 – 6,5 (Tannock dan Smith, 1970). Komposisi asam lemak dan protein penyusun membran yang beragam di antara spesies bakteri, diduga mempengaruhi keragaman ketahanan bakteri terhadap pH rendah (Anindita *et al.*, 2017).

Tabel 3a. Kemampuan tumbuh isolat bakteri selulolitik dari usus besar babi bali pada berbagai variasi pH (3,5 – 5,5)

Kode Isolat ¹	Kemampuan Tumbuh pada Berbagai Variasi pH (abs) ²								
	pH 3,5			pH 4,5			pH 5,5		
	0 Jam	24 Jam	48 Jam	0 Jam	24 Jam	48 Jam	0 Jam	24 Jam	48 Jam
A1	0,032a ³	0,053b	0,057c	0,032a	0,053ab	0,062a	0,032a	0,211f	0,212h
A5	0,032a	0,035cd	0,041ef	0,032a	0,049bcd	0,061a	0,032a	0,211f	0,212h
A11	0,032a	0,037cd	0,043def	0,032a	0,045cdef	0,050bc	0,032a	0,178i	0,243f
B2	0,032a	0,060a	0,067b	0,032a	0,040ef	0,042c	0,032a	0,125m	0,201i
B3	0,032a	0,032de	0,026g	0,032a	0,052abc	0,054ab	0,032a	0,241e	0,285a
C3	0,032a	0,038cd	0,041ef	0,033a	0,059a	0,061a	0,032a	0,196h	0,198j
C7	0,032a	0,028e	0,020gh	0,032a	0,046bcdef	0,050bc	0,032a	0,274a	0,276c
C8	0,032a	0,027e	0,024gh	0,032a	0,038f	0,047bc	0,032a	0,166i	0,174l
C11	0,032a	0,037cd	0,041ef	0,032a	0,049bcde	0,061a	0,032a	0,149l	0,169m
C12	0,032a	0,053b	0,085a	0,032a	0,042def	0,044c	0,033a	0,152k	0,194k
C15	0,032a	0,040c	0,050cd	0,032a	0,042def	0,054ab	0,032a	0,258c	0,275d
C20	0,032a	0,032de	0,039f	0,032a	0,045bcdef	0,046bc	0,032a	0,207g	0,238g
C22	0,032a	0,028e	0,012h	0,033a	0,027g	0,015d	0,032a	0,262b	0,279b
C25	0,032a	0,041c	0,048de	0,032a	0,039f	0,049bc	0,032a	0,253d	0,272e
SEM ⁴	0,0001	0,001	0,002	0,0002	0,001	0,002	0,0001	0,006	0,005

Keterangan: ¹Isolat bakteri selulolitik hasil isolasi dari usus besar babi bali, ²Hasil analisis Lab. Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan UNUD, ³Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan nilai yang berbeda tidak nyata (P>0,05), ⁴SEM=Standard Error of The Treatment Means

Terhadap kemampuan pertumbuhan pada medium dengan pH basa yaitu diatas pH 7. Berdasarkan Tabel 3a dan 3b pada medium dengan pH basa menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri masih memiliki kemampuan bertahan hidup dengan baik. Ini menunjukkan bahwa isolat bakteri selulolitik dari usus besar babi bali mampu tumbuh pada kondisi usus babi yang memiliki pH 7,0 – 8,0 (Li *et al.*, 2009). Kemampuan pertumbuhan pada isolat bakteri ini bersifat *strain dependent*, dimana viabilitas tersebut tergantung kemampuan dari masing-masing spesies bahkan di tingkat strain dari bakteri itu sendiri. Hal ini kemungkinan terjadi karena perbedaan membran sitoplasma setiap bakteri (Anindita *et al.*, 2017). Penelitian serupa yang dilakukan oleh Sunaryanto *et al.* (2014) berhasil memperoleh isolat bakteri *Lactobacillus casei* yang diisolasi dari susu kerbau dengan kemampuan tumbuh pada berbagai macam pH, baik asam maupun basa.

Tabel 3b. Kemampuan tumbuh isolat bakteri selulolitik dari usus besar babi bali pada berbagai variasi pH (6,5 – 8,0)

Kode Isolat ¹	Kemampuan Tumbuh pada Berbagai Variasi pH (abs) ²					
	pH 6,5			pH 8,0		
	0 Jam	24 Jam	48 Jam	0 Jam	24 Jam	48 Jam
A1	0,032a ³	0,227a	0,241d	0,032a	0,196d	0,239b
A5	0,032a	0,218d	0,243c	0,032a	0,206c	0,209e
A11	0,032a	0,174g	0,225f	0,032a	0,220b	0,303a
B2	0,032a	0,166h	0,186l	0,032a	0,148i	0,156l
B3	0,032a	0,157k	0,241d	0,032a	0,168g	0,231c
C3	0,032a	0,158j	0,192k	0,032a	0,165h	0,169k
C7	0,032a	0,153l	0,209g	0,032a	0,126k	0,139m
C8	0,032a	0,219c	0,239e	0,032a	0,166h	0,191h
C11	0,032a	0,227a	0,253b	0,032a	0,173f	0,218d
C12	0,032a	0,202e	0,208h	0,032a	0,241a	0,303a
C15	0,032a	0,157k	0,196j	0,032a	0,148i	0,185i
C20	0,032a	0,165i	0,183m	0,032a	0,145j	0,171j
C22	0,032a	0,193f	0,202i	0,032a	0,173f	0,194g
C25	0,032a	0,221b	0,278a	0,032a	0,187e	0,198f
SEM ⁴	0,0001	0,004	0,004	0,0002	0,004	0,006

Keterangan: ¹Isolat bakteri selulolitik hasil isolasi dari usus besar babi bali, ²Hasil analisis Lab. Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan UNUD, ³Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan nilai yang berbeda tidak nyata (P>0,05), ⁴SEM=Standard Error of The Treatment Means

Kemampuan tumbuh pada garam empedu

Salah satu parameter yang harus dimiliki oleh mikroba probiotik adalah tahan terhadap kondisi adanya garam empedu (*bile salt*). Pada Tabel 4 disajikan hasil pengamatan terhadap uji

ketahanan isolat bakteri selulolitik dari usus besar babi bali terhadap garam empedu pada berbagai konsentrasi. Isolat bakteri selulolitik hasil isolasi dari usus besar babi bali ini memiliki daya tahan terhadap garam empedu yang cukup tinggi, terbukti dengan adanya peningkatan nilai *optical density* yang menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu mengalami pertumbuhan.

Tabel 4. Kemampuan tumbuh isolat bakteri selulolitik dari usus besar babi bali pada garam empedu

Kode Isolat ¹	Kemampuan Tumbuh pada Garam Empedu (abs) ²								
	10 µl			20 µl			30 µl		
	0 Jam	24 Jam	48 Jam	0 Jam	24 Jam	48 Jam	0 Jam	24 Jam	48 Jam
A1	0,185a ³	1,228b	1,268d	0,185a	1,138b	1,199f	0,185a	1,010d	1,160e
A5	0,186a	0,981f	1,190f	0,185a	0,810l	1,120k	0,185a	0,820j	0,867i
A11	0,185a	1,190c	1,300b	0,185a	1,050e	1,288d	0,185a	1,120b	1,439a
B2	0,186a	0,908h	1,301b	0,185a	0,979g	1,131j	0,185a	1,081c	1,309c
B3	0,185a	1,021e	1,150g	0,185a	1,043f	1,510a	0,185a	1,010d	1,300c
C3	0,185a	0,902h	1,012k	0,185a	1,059d	1,178g	0,185a	0,822j	1,042g
C7	0,186a	1,152d	1,288c	0,185a	0,741m	1,140i	0,186a	0,960f	1,408b
C8	0,185a	0,949g	1,101i	0,185a	1,148a	1,340b	0,185a	1,151a	1,159e
C11	0,186a	1,136d	1,141h	0,185a	0,979g	1,131j	0,185a	0,861h	0,970h
C12	0,185a	0,809i	1,000l	0,185a	1,080c	1,130j	0,185a	0,929g	1,090f
C15	0,186a	1,001ef	1,060j	0,185a	0,959h	1,159h	0,185a	0,839i	0,950h
C20	0,186a	1,570a	1,611a	0,185a	0,881k	1,269e	0,185a	0,932g	1,080f
C22	0,185a	0,780i	0,968m	0,185a	0,920j	1,051l	0,186a	0,629k	0,790j
C25	0,185a	0,699j	1,262e	0,185a	0,941i	1,310c	0,185a	0,978e	1,210d
SEM ⁴	0,0003	0,029	0,022	0,0003	0,015	0,016	0,0004	0,018	0,025

Keterangan: ¹Isolat bakteri selulolitik hasil isolasi dari usus besar babi bali, ²Hasil analisis Lab. Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan UNUD, ³Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan nilai yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$), ⁴SEM=Standard Error of The Treatment Means

Garam empedu bersifat sebagai senyawa aktif permukaan sehingga dapat menembus dan bereaksi dengan sisi membrane sitoplasma yang bersifat lipofilik, menyebabkan perubahan dan kerusakan membran. Kombinasi tersebut bersifat bakterisidal bagi mikroorganisme komensal dalam tubuh ternak kecuali beberapa genus penghuni usus yang tahan terhadap empedu (Meutia, 2003). Kemampuan tumbuh pada garam empedu yang dimiliki oleh isolat bakteri selulolitik dikarenakan isolat bakteri tersebut juga merupakan salah satu genus penghuni saluran pencernaan ternak.

Kemampuan ini memenuhi salah satu syarat untuk menjadi strain probiotik yaitu mampu bertahan dalam saluran pencernaan (Purwandhani *et al.*, 2000). Penelitian serupa yang dilaksanakan oleh Jena *et al.*, (2013) mampu mengisolasi bakteri yang dapat tumbuh pada konsentrasi garam empedu tinggi dengan jenis bakteri yaitu *Lactobacillus intestinalis*,

Lactobacillus sakei, *Lactobacillus helveticus*, dan *Lactobacillus plantarum* dari kotoran tikus wistar jantan yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan populasi pada media dengan konsentrasi 0,3% garam empedu.

Kemampuan degradasi substrat

Hasil penelitian menunjukkan, bahwa kelima isolat kandidat bakteri probiotik selulolitik menunjukkan aktivitas selulolitik dengan menunjukkan zona bening dengan diameter yang berbeda-beda (Tabel 5). Setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan (Meryandini *et al.*, 2009). Besarnya zona bening yang dihasilkan oleh setiap isolat bakteri yang memiliki perbedaan berhubungan dengan kemampuan masing-masing isolat bakteri yang menghasilkan enzim selulase. Isolat bakteri yang memiliki aktivitas enzim selulase yang tinggi dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa dan menunjukkan zona bening yang besar disekitar koloni. Kemampuan bakteri dalam membentuk zona bening menunjukkan bahwa bakteri dapat memproduksi enzim selulase menjadikannya mampu menghidrolisis selulosa yang terdapat pada substratnya menjadi glukosa yang dapat dijadikan sumber karbon bagi pertumbuhannya.

Tabel 5. Kemampuan degradasi substrat kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik dari usus besar babi bali

Substrat ³	Diameter Zona Bening (cm) ²					SEM ⁵
	A5 ¹	A11	B2	C11	C12	
CMC	0,601e ⁴	0,953d	1,298c	1,473b	3,161a	0,203

Keterangan: ¹Kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik hasil isolasi dari usus besar babi bali, ²Hasil analisis Lab. Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan UNUD, ³Substrat uji, ⁴Huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan nilai yang berbeda tidak nyata (P>0,05), ⁵SEM=Standard Error of The Treatment Means

Bakteri selulolitik akan mempercepat proses degradasi komponen serat bahan pakan sehingga potensi nutrient yang terkandung akan dapat dimanfaatkan secara lebih optimal. Adanya populasi bakteri probiotik selulolitik yang tinggi secara umum berpotensi memberikan kemampuan dalam mendegradasi senyawa selulolitik yang tinggi pula dan sekaligus sebagai antibiotika alami karena bakteri probiotik dapat berfungsi menjaga kesehatan saluran pencernaan melalui penurunan populasi mikroba patogen dalam saluran pencernaan (Dewi *et al.*, 2018). Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Guder dan Krishna, (2019) berhasil diisolasi bakteri dengan jenis *Bacteriodes* spp., *Bacillus* spp., dan *Enterobacter* spp. dari rumen domba yang mampu menghasilkan zona bening dengan lebar 0,25 – 0,34 cm pada media yang mengandung substrat CMC.

Aktivitas antimikroba

Uji kemampuan sifat-sifat yang harus dimiliki oleh mikroba probiotik adalah kemampuan menghambat bakteri lain khususnya bakteri patogen. Hasil percobaan uji aktivitas antimikroba isolat kandidat bakteri probiotik selulolitik terhadap mikroba uji (*E. coli*) disajikan dalam Tabel 6. Tabel 6 menunjukkan bahwa kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik dari usus besar babi bali positif menghambat *E. coli*. Zona bening terbentuk karena adanya interaksi antara isolat kandidat bakteri probiotik selulolitik yang mendesak pertumbuhan *Escherichia coli*.

Tabel 6. Aktivitas antimikroba kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik dari usus besar babi bali

Bakteri Patogen ³	Diameter Zona Bening (cm) ²					SEM ⁵
	A5 ¹	A11	B2	C11	C12	
<i>Escherichia coli</i>	0,276c ⁴	0,195c	0,378bc	0,605a	0,570ab	0,043

Keterangan: ¹Kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik hasil isolasi dari usus besar babi bali, ²Hasil analisis Lab. Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan UNUD, ³Bakteri uji, ⁴Huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan nilai yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$), ⁵SEM=Standard Error of The Treatment Means

Bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat merusak komponen struktur dinding sel bakteri patogen (Situmeang *et al.*, 2017). Adanya enzim hidrolitik (protease, selulase, kitinase, dan glukonase) yang dihasilkan oleh kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik mampu mendegradasi komponen dinding sel bakteri patogen. Enzim hidrolitik bekerja dengan memecah ikatan glikosidik yang ada pada polisakarida dinding sel mikroba patogen (Jadhav *et al.*, 2017). Kemampuan antagonis isolat kandidat bakteri probiotik selulolitik dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ditandai dengan terhambatnya pertumbuhan bakteri tersebut dan pembentukan zona jernih di sekitar koloni bakteri patogen.

Perbedaan kemampuan masing-masing isolat kandidat bakteri probiotik selulolitik dari usus besar babi bali dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jenis senyawa aktif yang dihasilkan. Beberapa hal yang mempengaruhi besar kecilnya zona bening yang dibentuk oleh isolat kandidat bakteri probiotik selulolitik terhadap *Escherichia coli* antara lain: interaksi antara kemampuan bakteri dalam menghasilkan senyawa aktif atau enzim hidrolitik, umur biakan bakteri, jumlah senyawa aktif yang dihasilkan, komposisi medium dan waktu inkubasi. Penurunan zona hambat juga dapat terjadi karena isolat bakteri sudah masuk fase kematian disebabkan sumber nutrisi pada media terbatas (Situmeang *et al.*, 2017). Hasil penelitian Sunaryanto *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa bakteri jenis *Lactobacillus casei* mampu menghambat *E. coli* dengan diameter zona bening 1,375 cm. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Abubakr dan Al-Adiwish (2017) menunjukkan

bahwa bakteri *L. plantarum* dan *L. mesenteroides* yang diisolasi dari beberapa buah yang berbeda mampu menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *E. coli* sebesar 0,55 dan 0,49 cm.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, dapat ditarik simpulan sebagai berikut:

1) Kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik dapat diisolasi dari usus besar babi bali serta berhasil diperoleh 5 kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik. 2) Kandidat isolat bakteri probiotik selulolitik dengan kode C11 dan C12 merupakan 2 isolat dengan kemampuan lebih tinggi dengan kemampuan degradasi substrat 1,473 cm dan 3,161 cm serta aktivitas antimikroba 0,605 cm dan 0,570 cm.

Saran

Disarankan untuk melakukan uji lanjutan ke pakan sumber serat secara *in vitro* maupun *in vivo* agar lebih mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi serat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Perkenankan penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Rektor Universitas Udayana Prof. Dr. Ir. I Nyoman Gde Antara, M.Eng, IPU., Dekan Fakultas Peternakan Dr. Ir. I Nyoman Tirta Ariana, M.S., IPU., ASEAN Eng., Koordinator Program Studi Sarjana Peternakan Dr. Ir. Ni Luh Putu Sriyani, S.Pt, MP., IPM., ASEAN Eng. atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan di Program Studi Sarjana Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakr, M.A.S. and W.M. Al-Adiwish. 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria from different fruits with proteolytic activity. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2(2): 58-64.
- Anindita, N.S., M. Anwar, Widodo, T.T. Taufiq, dan T.D. Wahyuningsih. 2017. Ketahanan Isolat Bakteri Asal Feses Bayi Terhadap Variasi Suhu dan pH. *Proceeding Health Architecture*. 1(1): 163-169.

- Asmare, B. 2014. Effect of common feed enzymes on nutrient utilization of monogastric animals. *Int. J. Biotechnol. Mol. Biol. Res.* 5(4): 27-34.
- Betancur, C., Y. Martínez, G. Tellez-Isaias, M.V. Avellaneda, and B. Velázquez-Martí. 2020. In vitro characterization of indigenous probiotic strains isolated from colombian creole pigs. *Animals.* 10(7): 1204-1215.
- Bhat, M.K. 2000. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnol. Adv.* 18(5): 355–383.
- Budaarsa, K., A.W. Puger, dan I.M. Suasta. 2016. Eksplorasi Komposisi Pakan Tradisional Babi Bali. *Majalah Ilmiah Peternakan.* 19(1): 6-11.
- Dewi, G.A.M.K., I.N.S. Utama, I.M. Mudita, dan I.W. Wijana. 2018. Biosuplemen Asal Rayap. Denpasar: Swasta Nulus.
- Fitasari, E., dan A. Afrila. 2015. Efek Probiotik Pada Aplikasi Kadar Protein Kasar (PK) Pakan Yang Berbeda Terhadap Efisiensi Pakan Ayam Kampung. *Buana Sains.* 15(1): 35-44.
- Guder, D.G. and M.S.R. Krishna. 2019. Isolation and characterization of potential cellulose degrading bacteria from sheep rumen. *J Pure Appl Microbiol.* 13(3): 1831-1839.
- Jadhav, H.P., S.S. Shaikh, and R.Z. Sayyed. 2017. Role of hydrolytic enzymes of rhizoflora in biocontrol of fungal phytopathogens: an overview. *rhizotrophs: Plant Growth Promotion to Bioremediation.* 183-203.
- Jena, P.K., D. Tridevi, K. Thakore, H. Chaudhary, and S.S. Giri. 2013. Isolation and characterization of probiotic properties of *Lactobacilli* isolated from rat fecal microbiota. *Microbiol Immunol.* 57: 407-416.
- Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T. C. Sunarti, N. Rachmania, dan H. Satria. 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara Sains* 13(1): 33-38.
- Meutia, Y.R. 2003. Evaluasi potensi Probiotik Isolat Klinis *Lactobacillus* sp. Secara in vitro dan in vivo. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Miyamoto, H., M. Seta, S. Horiuchi, Y. Iwasawa, T. Naito, A. Nishida, H. Miyamoto, T. Matsushita, K. Itoh, and K. Kodama. 2013. Potential probiotic thermophiles isolated from mice after compost ingestion. *Journal of Applied Microbiology.* 114(4): 1147-1157.
- Mudita, I M., I G. L. O. Cakra, I N. S. Utama, I G. Mahardika. 2019^a. Formulasi Biokatalis Bakteri Lignoselulolitik Sebagai Pengolah Limbah Pada Usaha Peternakan Sapi Bali. Penelitian Inovasi Udayana. Fakultas Peternakan. Universitas Udayana, Denpasar.
- Mudita, I M., I G. L. O. Cakra, I G. Mahardika, I N. S. Utama. 2019^b. Bakteri Lignoselulolitik. Biokatalis Pakan Limbah Pertanian. Berbasis Eksperimental. Cetakan Pertama. Penerbit Swasta Nulus, Denpasar. ISBN 978-623-7559-23-8.

- Mudita, I M., I W. Sukanata, I. B. G. Partama, I N. S. Utama. 2020^a. Produksi Probiotik Bakteri Lignoselulolitik “Probio Balitani” Sebagai Pengganti AGP Usaha Peternakan Broiler. Penelitian Calon perusahaan Pemula Udayana. Fakultas peternakan Universitas Udayana, Denpasar
- Mudita, I M., I W. Sukanata, I. B. G. Partama, I N. S. Utama. 2020^b. Probiotik Bakteri Lignoselulolitik “Probio-BaliTani” Pengganti AGPs Peternakan Broiler. Penerbit Swasta Nulus, Denpasar Bali, ISBN: 978-623-7559-95-5
- Perko, B. 2011. Effect of prolonged storage and microbiological quality of raw milk. microbiological quality of raw milk. Mjekar Stvo. 61(2):114-124.
- Pleczar, M dan E.C.S. Chan. 2007. Dasar-dasar Mikrobiologi. Volume 1. Hadioetomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S dan Angka, S. L, penerjemah. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari Elements of Microbiology.
- Puger, A.W., I.M. Suasta, P.A. Astawa, dan K. Budaarsa. 2015. Pengaruh Penggantian Ransum Komersial Dengan Ampas Tahu Terhadap Kecernaan Pakan Pada Babi Ras. Majalah Ilmiah Peternakan. 18(1): 22-25.
- Purwandhani, S.N., E.S. Rahayu, dan E. Harmayani. 2001. Isolasi Lactobacillus yang Berpotensi sebagai Kandidat Probiotik. Seminar Nasional Industri Pangan. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan. Surabaya
- Sastrosupadi, Adji. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Yogyakarta: Kanisius.
- Situmeang, S.M.F., Musthari, dan S. Riadi. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (Bal) dari Yoghurt dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Jurnal Biosains. 3(3): 144-152.
- Song, E.J., M.H. Lee, M.J. Seo, K.J. Yim, D.W. Hyun, J.W. Bae, S.I. Park, S.W. Roh, and Y.D. Nam. 2014. *Bizionia psychrotolerans* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from the intestine of a sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). Antonie van Leeuwenhoek. 106(4): 837-844.
- Sriyani, N.L.P., dan I.N.T. Ariana. 2016. Studi Karakteristik Karkas Babi Bali Asli dan Babi Landrace Yang Digunakan Sebagai Bahan Baku Babi Guling. Majalah Ilmiah Peternakan. 21(2): 56-59.
- Sumadi, I.K., I.M. Suasta, I.P. Ariastawa, dan A.W. Puger. 2016. Pengaruh ME/CP Ratio Ransum Terhadap Performans Babi Bali. Majalah Ilmiah Peternakan. 19(2): 77-79.
- Sumardani, N.L.G., dan I.N. Ardika. 2016. Populasi dan Performa Reproduksi Babi Bali Betina di Kabupaten Karangasem Sebagai Plasma Nutfah Asli Bali. Majalah Ilmiah Peternakan. 19(3): 105-109.
- Sunaryanto, R., E. Martius, dan B. Marwoto. 2014. Uji Kemampuan *Lactobacillus Casei* sebagai Agensia Probiotik. Bioteknologi & Biosains Indonesia. 1(1): 9-14.

- Tulung, C., Umboh, J.F., Sompie, F.N., dan C.J. Pontoh. 2015. Pengaruh Penggunaan Virgin Coconut Oil (Vco) Dalam Ransum Terhadap Kecernaan Energi dan Protein Ternak Babi Fase Grower. *Jurnal ZooteK*. 35(2): 319-327.
- Wu, X.Y., M. Walker, B. Vanselow, R.L. Chao, and J. Chin. 2006. Characterization of mesophilic bacilli in faeces of feedlot cattle. *Journal of Applied Microbiology*. 102: 872-879.
- Zurmiati, M.E. Mahata, M.H. Abbas, dan Wizna. 2014. Aplikasi Probiotik Untuk Ternak Itik. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 16(2): 134-144.