

Potensi *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum* dari Saluran Pencernaan Ayam Buras Asal Lahan Gambut sebagai Sumber Probiotik

Fahmida Manin¹

Intisari

Probiotik adalah kultur dari suatu mikroorganisme hidup yang dimasukkan pada ternak melalui pencampuran dalam ransum untuk menjamin ketersediaan populasi bagi organisme dalam usus. Kultur tersebut mengandung bakteri spesifik, tahan dalam situasi kering. Probiotik dapat mengandung satu atau sejumlah lebih strain mikroorganisme dalam bentuk powder, tablet, granula atau pasta dan dapat diberikan kepada ternak secara langsung melalui mulut atau dicampur dengan air maupun pakan. Produk probiotik pada umumnya berupa Bakteri Asam Laktat (BAL), dan beberapa genus *Bacillus*, namun tidak semua jenis Bakteri Asam Laktat dan Bakteri *Bacillus* termasuk dalam probiotik. *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus acidophilus* dilaporkan dapat berperan sebagai probiotik dan dapat meningkatkan bobot badan pada ternak ayam. Demikian pula *Bacillus circulans* dan *Bacillus sp* yang di isolasi dari saluran pencernaan itik lokal Kerinci dapat digunakan sebagai sumber probiotik pada ayam dan itik serta efektif untuk digunakan sebagai pengganti antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis dan distribusi mikroba dominan pada setiap segmen saluran pencernaan ayam yang dipelihara di lahan gambut, melalui teknik isolasi, identifikasi dan seleksi, dan pengujian sifat probiotik yang meliputi ketahanan terhadap asam, ketahanan terhadap garam empedu dan uji koagregasi antara mikroba. Hasil Identifikasi bakteri saluran pencernaan ayam yang dipelihara di lahan gambut diperoleh *Lactobacillus acidophilus*, dan *Lactobacillus fermentum*. Hasil pengujian terhadap sifat probiotik diperoleh kedua jenis bakteri tersebut tahan terhadap pH mulai dari pH 2.0 sampai pH 4, selama 14 jam inkubasi, tahan terhadap garam empedu sampai 14 jam inkubasi dan mempunyai sifat koagregasi yang positif. Berdasarkan hasil tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa produksi probiotik ini diharapkan dapat diaplikasikan pada ternak unggas, khususnya untuk ternak ayam.

Kata kunci : *Lactobacillus acidophilus*, *L. fermentum*, ketahanan terhadap pH, garam empedu dan daya koagregasi

(The potency of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus fermentum* from digestivetract of Local Chickens Growing in Peat Soil as Probiotic Sources)

Abstract

Probiotics are cultures of microorganisms included in the diets of cattle through mixing to ensure the availability of a population of organisms in the gut. The culture contains a specific bacterium, resistant in dry situations. Probiotics may contain one or more strains of microorganisms in the form of powder, tablets, granules or paste and can be given to livestock is directly through the mouth or mixed with water and feed. Probiotic products in general form of Lactic Acid Bacteria (LAB), and some of the genus *Bacillus*, but not all types of Lactic Acid Bacteria and *Bacillus* included in probiotic bacteria. *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* reported to act as probiotics and to increase body weight in chickens. Similarly, *Bacillus circulans* and *Bacillus Sp* isolated from the digestive tract Kerinci local ducks can be used as a source of probiotics on chickens and ducks and effective for use as a substitute for antibiotics. This study aimed to determine the type and distribution of the dominant

¹ Staf Pengajar Fakultas Peternakan Universitas Jambi, Jambi

microbes in each segment of the digestive tract of chickens reared in peatlands, through isolation technique, identification and selection, and testing probiotic properties, including resistance to acid, resistance to bile salts and koagregasi test between microbes. Results Identification of the chicken digestive tract bacteria dipe; ihara in peatlands obtained *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus fermentum*. The test results obtained on the nature of the two types of probiotic bacteria were resistant to a pH ranging from pH 2.0 to pH 4, for 14 hours of incubation, that was resistant to bile salts up to 14 hours of incubation and hade a positive coaguration. In conclusion, probiotics production is expected to be applied to poultry, especially chickens.

Key Words: *Lactobacillus acidophilus*, *L.fermentum*, resistance to pH, bile salts and power coagregation

Pendahuluan

Probiotik didefinisikan sebagai organisme yang memberikan kontribusi terhadap keseimbangan mikroba dalam usus. Menurut Crawford (1979). Fuller (1992) menyatakan bahwa probiotik akan efektif bila mampu bertahan dengan baik dalam beberapa kondisi lingkungan dan tetap hidup dalam beberapa bentuk kemasan. Karakteristik probiotik yang efektif adalah dapat dikemas dalam bentuk hidup dalam skala industri, stabil dan hidup pada kurun waktu penyimpanan lama dan kondisi lapangan, bisa bertahan hidup di dalam usus dan menguntungkan bagi ternak.

Lactobacillus merupakan salah satu genus bakteri asam laktat yang paling banyak dijumpai pada saluran gastro intestinal baik pada manusia maupun hewan. Pada usus halus, jumlahnya dapat mencapai 10^6 - 10^7 sel/g. Sedangkan pada usus besar jumlahnya berkisar antara 10^{10} - 10^{11} sel/g (Ray, 1996^b). Beberapa manfaat yang ditimbulkan dari pemberian probiotik dalam campuran pakan terhadap ayam antara lain untuk mempertahankan mikroflora bermanfaat dalam saluran pencernaan dan sebaliknya menghambat pertumbuhan bakteri patogen, meningkatkan aktivitas enzim pencernaan, menurunkan aktivitas enzim bacterial dan produksi ammonia, meningkatkan asupan dan pencernaan makanan serta menetralkan enterotoksin dan menstimulir system kekebalan .

Beberapa probiotik umum meliputi berbagai spesies dari genera *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* seperti: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus GG*. (Ummina Dafawwaz,2008).

Ayam buras yang dipelihara di lahan gambut dengan pH tanah 3.2 – 5.4 pada umumnya hidup dengan pakan seadanya yang diperoleh dari lingkungan sekitarnya. Kondisi pakan yang marginal, diduga akan mempengaruhi jenis dan populasi mikroba di dalam setiap segmen saluran pencernaannya, meskipun pada kenyataannya mikroba dapat dibagi sesuai dengan daerah saluran pencernaan, perlu diingat bahwa mikroba hampir kontinyu disepanjang usus.

Materi dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Jambi. Materi penelitian yang digunakan adalah isolat *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum* (hasil isolasi dari usus ayam buras yang dipelihara di lahan Gambut Kabupaten Tanjung Jabung Barat Provinsi Jambi). MRS Broth dan MRS Agar.

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, Erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, cawan petri, coloni counter, vortex, indicator Rezazurin (Difco), Gas generatig (Merk), anaerobic jar (Merk), spektrofotometer, mikroskop, refrigerator, autoklaf, oven, laminar flow, inkubator. Metode yang digunakan untuk penentuan spesies bakteri asam laktat adalah menggunakan uji gula-gula (Buchanan dan Gibbons. 1975) dan selanjutnya dilakukan pengujian terhadap sifat-sifat probiotik antara lain Ketahanan Terhadap pH Lambung (Conway et al., 1986 dan Jacobsen et al., 1999), Ketahanan Terhadap Garam Empedu (Gillilan et al., 1984) dan Uji koagregasi.

Pengujian Sifat-sifat Probiotik Ketahanan Terhadap pH Lambung (Conway et al., 1986 dan Jacobsen et al., 1999)

Ketahanan tiap kultur bakteri terhadap pH lambung perlu dilakukan untuk mengetahui kemampuannya bertahan dalam lambung dan saluran pencernaan yang mempunyai pH asam. Cara yang dilakukan adalah dengan menambahkan 0.1 mL suspensi *Lactobacillus acidophilus* dan *L. Fermentum* dalam medium MRS broth dalam satu seri tabung yang berisi 2 mL larutan PBS steril yang mempunyai pH 1, 2, 3, 4 dan 5 (pengukuran pH dilakukan dengan penambahan HCl). Pengukuran jumlah bakteri yang mampu bertahan dihitung dengan melihat perubahan optikal densiti (OD) 620 nm yang diukur pada 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, dan 24 jam masa inkubasi pada suhu 37 °C. Jumlah bakteri yang tumbuh pada kondisi yang berbeda dihitung mulai setelah 4 jam inkubasi dengan plating sebanyak 100 µl pada MRS agar.

Ketahanan Terhadap Garam Empedu (Gillilan et al., 1984)

Medium steril MRS broth 10 mL

yang telah ditambah 0.3 % oxgal disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, juga dibuat kontrol yaitu tanpa oxgal. Sebanyak 1 mL kultur bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *L. Fermentum* diinokulasikan kedalamnya dan diinkubasi pada suhu 37 °C. Pertumbuhan diamati dengan adanya peningkatan turbiditas (kekeruhan) mencapai OD 0.3 pada absorbansi 600 nm dengan spektrofotometer. Pengamatan dilakukan setiap 1 jam setelah 6 jam, kemudian dibuat kurva pertumbuhan yang diplotkan dengan waktu yang dibutuhkan untuk mencapai kekeruhan dengan penentuan OD. Sebagai perbandingan untuk penghitungan jumlah bakteri yang mampu bertahan pada garam empedu dilakukan penumbuhan pada MRS agar yang telah ditambah oxgal 0.3 %.

Uji koagregasi dilakukan dengan menentukan besarnya kemampuan interaksi antar kultur bakteri untuk saling menempel dalam saluran pencernaan, sehingga tidak mudah tercuci keluar akibat pergerakan usus. Pada metode ini digunakan kultur tunggal dan campuran dengan perbandingan 1 : 1 dan koagregasi dinyatakan dalam penurunan OD relatif antara bakteri yang dicampur dengan yang tidak (tunggal). Pengujian dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV. Kultur bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *L.fermentum* yang telah ditumbuhkan pada MRS broth pada suhu 37 °C selama 24 jam, dipanen dengan cara mensentrifus pada 10.000 rpm selama 10 menit. Kemudian dicuci 2 kali dengan PBS steril yang mengandung NaCl 8 g/l, KH₂PO₄ 0.34 g/l dan 1.21 g/l K₂HPO₄. Kultur kemudian disuspensikan kembali pada buffer yang sama, dan dimasukkan kedalam kuvet dan dilihat penurunan OD hingga mencapai OD akhir 0.6 + 0.02 pada panjang gelombang 600 nm, diamati

selama 4 jam pada suhu ruang. Hal yang sama juga dilakukan untuk kontrol pada kultur bakteri tunggal.

Persen koagregasi dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Persen Koagregasi} = \frac{(\text{OD.1} + \text{OD.2}) - 2 \times \text{OD.12}}{(\text{OD.1} + \text{OD.2})} \times 100\%$$

OD 1 = optikal densiti galur 1

OD 2 = optikal densiti galur 2

OD 12 = optikal densiti galur 1 2
(campuran)

Hasil Dan Pembahasan

Identifikasi Bakteri *Lactobacillus* sp Saluran Pencernaan Ayam Buras

Lactobacillus merupakan salah satu genus bakteri asam laktat yang paling banyak dijumpai pada saluran gastro-intestinal baik pada manusia maupun pada hewan. Pada usus halus jumlahnya dapat mencapai $11 - 19 \times 10^7$ cfu/mL (Manin dkk., 2007) *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum* merupakan bakteri asam laktat yang paling dominan dan paling banyak dipelajari. Hasil penelitian Lu (2005) diperoleh jumlah bakteri *Lactobacillus* sekitar 70 % dari populasi bakteri yang ada dalam saluran pencernaan.

Bakteri asam laktat yang digunakan sebagai agensia probiotik harus tetap hidup selama melewati saluran pencernaan, sebab efek probiotik yang ditimbulkan berasal dari senyawa-senyawa hasil aktivitas metabolik yang dilakukannya. Meskipun belum diketahui dengan pasti mekanisme yang berkaitan dengan keberadaan mikroflora dalam saluran pencernaan ayam, namun faktor-faktor yang mempengaruhinya antara lain pakan, umur dan kondisi kimia dan fisik lingkungan pencernaan (kecepatan pencernaan dalam perut, pH, dan potensial reduksi-oksidasi (Eh)) (Cunningham, 1987; Haddadin .et. al., 1996).

Keberadaan bakteri dalam saluran pencernaan ayam antara lain disebabkan karena adanya interaksi bakteri dan

lingkungan sekitar yang mengkontaminasi tubuh ayam melalui pakan. Perbedaan umur ayam juga akan memberikan pengaruh pada perbedaan jenis bakteri yang ada. Hasil penelitian Baba *et al.* (1991) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan komposisi populasi bakteri yang ada pada ayam berumur 2 hari dan ayam dewasa, yaitu adanya dominasi bakteri *Lactobacilli* pada ayam dewasa. Pada ayam, kecepatan pencernaan terbesar terdapat pada bagian anterior usus halus. Sebagian besar organ pencernaan ayam bersifat asam, dengan pH berkisar antara 3-4, dan mengandung garam empedu, sehingga mikrobia yang digunakan sebagai probiotik harus tahan terhadap kondisi asam dan garam empedu. Potensial reduksi oksidasi akan berpengaruh pada ketersediaan oksigen, sehingga akan turut menentukan jenis bakteri yang mampu hidup, jenis aerob maupun anaerob (Drasar dan Barrow, 1985).

Beberapa spesies *Lactobacillus* telah banyak diisolasi dari saluran usus halus manusia dan hewan. Beberapa diantaranya adalah *L.acidophilus*, *L. reuteri*, *L.lactis*, *L.casei*, dan *L. fermentum*. Dari beberapa spesies tersebut diatas, *L. acidophilus* merupakan bakteri asam laktat yang paling dominan dan paling banyak dipelajari. Hingga kini, telah berhasil diperoleh 6 galur *L. acidophilus* yaitu *L.crispatus*, *L. amylovarus*, *L.gallinarum*, *L. gasseri*, dan *L. johnsonii* (Ray, 1996^a).

Pengujian Sifat-sifat Probiotik

Pengujian Ketahanan Terhadap pH Lambung *L.acidophilus* dan *L. fermentum*

Ketahanan tiap kultur bakteri terhadap pH lambung perlu dilakukan untuk mengetahui kemampuannya bertahan dalam lambung dan saluran pencernaan yang mempunyai pH asam. Ketahanan terhadap pH lambung *L. acidophilus* dan *L. fermentum* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil Uji Lanjut Pengujian Isolat *Lactobacillus*

Uji Gula Gula	<i>Lactobacillus</i> sp-1	<i>Lactobacillus</i> sp-2
Arabinosa	+	+
Esculin	+	-
Galaktosa	+	+
Glukosa	+	-
Lactosa	+	+
Maltosa	+	-
Mannitol	+	+
Raffinosa	+	+
Rhamnosa	-	-
Salicin	-	-
Sorbitol	+	+
Sucrosa	+	+
Xylosa	-	-

Kesimpulan :

1. *Lactobacillus* spesies-1 = *Lactobacillus acidophilus*
2. *Lactobacillus* spesies-2 = *Lactobacillus fermentum*

Tabel 2. Rataan Nilai Absorbansi Ketahanan Terhadap pH 2, 3, 4, dan 5 *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum*

Jam	<i>Lactobacillus acidophilus</i>				<i>Lactobacillus fermentum</i>			
	pH 2	pH 3	pH 4	pH 5	pH 2	pH 3	pH 4	pH 5
0	0.189	0.177	0.184	0.190	0.212	0.216	0.290	0.227
2	0.242	0.205	0.213	0.232	0.280	0.240	0.248	0.254
4	0.207	0.160	0.191	0.208	0.192	0.225	0.207	0.209
6	0.217	0.176	0.186	0.224	0.222	0.213	0.226	0.212
8	0.542	0.185	0.308	0.195	0.296	0.172	0.201	0.204
10	0.225	0.175	0.175	0.195	0.193	0.195	0.194	0.240
12	0.215	0.174	0.169	0.188	0.273	0.218	0.194	0.175
14	0.202	0.206	0.159	0.248	0.174	0.180	0.233	0.171

Rataan nilai absorbansi ketahanan terhadap pH 2.0, 3.0, 4.0 dan 5.0 *L. acidophilus* dan *L. fermentum* hampir sama pada setiap jam inkubasi, artinya bakteri *L. acidophilus* dan *L. fermentum* dapat bertahan hidup pada pH saluran pencernaan ternak unggas bagian proventriculus dan ventriculus yang mempunyai pH sangat rendah (pH 2.0 – 3.0).

Jumlah koloni *L. acidophilus* pada waktu 0 jam inkubasi sebesar 1.5×10^6 cfu/ml pada pH 2.0 dan 1.3×10^7 cfu/ml pada pH 3.0. Jumlah koloni ini semakin

meningkat selama waktu inkubasi 10 jam yaitu sebesar 3.7×10^{10} cfu/ml pada pH 2.0 dan 2.1×10^{11} cfu/ml pada pH 3.0. Fakta ini menunjukkan bahwa *L. acidophilus* mampu bertahan pada pH 2.0 dan 3.0 sesuai dengan pH proventriculus dan ventriculus. Jumlah koloni *L. fermentum* pada 0 jam inkubasi sebesar 7×10^6 cfu/ml pada pH 2.0 dan 1.1×10^6 cfu/ml pada pH 3.0, meningkat menjadi $3,3 \times 10^{11}$ cfu/ml pada pH 2.0 dan 9.0×10^9 cfu/ml pada pH 3.0. Hal ini menunjukkan bahwa *L. acidophilus* dan *L. fermentum* sangat adaptif dalam saluran pencernaan ternak

unggas. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat Lu (2005) yang menyatakan bahwa sebagian besar bakteri yang berada dalam saluran pencernaan adalah *Lactobacillus*.

Pengujian Ketahanan Terhadap Garam Empedu *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum*

Uji toleransi dan ketahanan terhadap garam empedu perlu dilakukan mengingat isolat *L.acidophilus* dan *L.fermentum* akan digunakan sebagai agensia probiotik akan dicampurkan dalam pakan yang nantinya akan melewati saluran pencernaan ayam. Rataan nilai absorbansi *L.acidophilus* dan

L.fermentum disajikan pada Tabel 3.

Rataan nilai densitas optical *L.acidophilus* dan *L.fermentum* semakin meningkat seiring dengan semakin meningkatnya waktu inkubasi.(Tabel 3) dan Peningkatan nilai densitas optical ini tidak diiringi dengan peningkatan jumlah bakteri hidup. Jumlah bakteri yang tertinggi diperoleh setelah 10 jam inkubasi dengan jumlah sel 30×10^{10} cfu/ml. Ketahanan bakteri terhadap pH lambung (berkisar antara 3.0-4.0) merupakan seleksi awal dari uji-uji untuk probiotik, dimana isolat harus stabil dalam kondisi asam lambung dan tahan terhadap asam, tetapi juga mempunya

Tabel 3. Rataan Nilai Densitas Optical (600 nm).*L.acidophilus* (La) dan *L.fermentum* (Lf) Terhadap Garam Empedu

Waktu inkubasi	Nilai Densitas optical (600 nm)			
	<i>L.acidophilus</i>	La + GE	<i>L.fermentum</i>	L.f + GE
0	0.699	0.636	0.767	0.698
6	0.895	0.950	0.952	0.980
8	1.208	1.302	1.202	1.280
10	1.552	1.605	1.524	1.483
12	1.785	1.843	1.785	1.748
14	1.955	1.900	1.970	1.901

stabilitas terhadap garam empedu. Menurut Mitsuoka (1978) bakteri ini akan membantu pencernaan dengan mengasamkan saluran pencernaan, dimana metabolit bakteri patogen seperti *S.thyphimurium*, *E.coli* dan *proteus*.

Semakin aktifnya sintesa asam lemak maka produksi asam empedu akan dirangsang dan semakin banyak pula yang disekresikan kedalam usus, sehingga kosentrasinya akan semakin meningkat. Kosentrasi asam empedu yang tinggi akan bersifat bakterisidal terhadap bakteri gram negatif.

Pengujian ketahanan terhadap daya koagregasi *L.acidophilus* & *L.Fermentum*

Hasil uji koagregasi kombinasi antara *L.acidophilus* dan *L.fermentum* disajikan pada Tabel 4.

Kombinasi antara *L.acidophilus* dan *L.fermantum* mampu membentuk koagregasi. Koagregasi dan interaksi antara spesies akan menyebabkan katahanan terhadap peristaltic usus, sehingga *L.acidophilus* dan *L.fermentum* ini akan tinggal lebih lama dalam usus dan akan terjadi komfetitif terhadap mikroba pathogen seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* Persentase koagregasi

Tabel. 4. Pesentase Koagregasi Kombinasi *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum*

Waktu Inkubasi	Nilai Densitas Optical (600 nm)			Persentase Koagregasi
	<i>L.acidophilus</i>	<i>L.fermentum</i>	<i>La + Lf</i>	
4	1.157	0.996	0.690	7.020
6	1.126	0.940	0.662	4.843
8	1.095	0.928	0.644	6.152
10	1.061	0.896	0.625	5.990
12	1.033	0.874	0.609	5.991
14	1.011	0.870	0.600	7.114
16	1.008	0.844	0.590	5.031
18	0.964	0.842	0.581	8.437
20	0.948	0.813	0.573	6.441
22	0.920	0.800	0.568	6.958

tertinggi dicapai pada jam ke-18 inkubasi. Koagregasi juga diperkirakan dapat memfasilitasi interaksi nutrisi yang menguntungkan antara pasangannya, dan fenomena umum ini dapat berperan penting dalam usaha mencari probiotik yang baik, karena dapat mencegah infeksi bakteri patogen (Gusils *et al.*, 1999).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil isolasi, identifikasi dan seleksi diperoleh bakteri *L.acidophilus*, *L.fermentum*, pada setiap saluran pencernaan ayam buras fase umur, tahan terhadap (pH) 2 – 5, garam empedu selama 14 jam inkubasi dan mempunyai daya koagregasi positif diantara spesies bakteri.

Ucapan Tarima kasih

Ucapan tarima casi disampaikan pada DP2M DIRJEN DIKTI atas dana Penelitian Fundamental dengan nomor kontrak : Nomor 007/SP2H/ PP/ DP2M/ III/2008 Tanggal 06 Maret 2008

Daftar Pustaka

Baba, E., S. Nagaishi, T. Fukata and A. Arakawa. 1991. The role of intestinal on the prevention of Salmonella colonization in

gnotobiotic chickens. Poultry Science 70 : 1902-1907.

Buchanan dan Gibbons. 1975. Bergeys Manual of Determinative Bacteriology. 9th The William and Wilkins Company. California.

Conway, P., I., Wang, X. 2000. Specifically targeted probiotic can reduce antibiotics usage in animal production. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 13. supp : 358-361.

Cunningham, F.E and N.A. Cox. 1987. The Microbiology of Poultry Meat Products. Academic Press Inc, San Diego, California.

Dafawwaz, Ummina. 2008. Penggunaan probiotik dalam peternakan. <http://www.google.co.id>. Tanggal Akses 13 Oktober 2008.

David, R.B. 2001. Bergeys Manual of systematic Bacteriology. Second edition. Volume One. The Archaea and the deeply branching and phototropic bacteria.

Drasar, B.S. and P.A. Barrow. 1985. Intestinal Microbiology. American Society for Microbial.

Fuller, R. 1992. History and Development of Probiotics. In Probiotics the Scientific basis. Edited by Fuller. Chapman and hall. London, New York, Tokyo, Melbourne, Madras. Pp. 1 – 7.

- Guisils, C.A.P. Chaia, S. Gonzalez and G. Oliver. 1999. Lactobacilli isolated from chicken intestines : Potential use as probiotics. *J. Food Protection*. 2(3) : 252 – 256.
- Haddadin, M.S.Y., S.M. Abdulrahim, E.A. R. Hashlamoun and R.K Robinson. 1996. The effect of *Lactobacillus acidophilus* on the production and chemical composition on hen's eggs. *Poultry Science*. 75:491-494.
- Lu, J., Idris, U. Harmon, B. Hofacre, C. Maurer, JJ, Lee, MD. 2003. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 : 6816-6824.
- Manin F., Ella Hendalia, dan A. Aziz. 2007. Isolasi dan Produksi Isolat Bakteri Asam Laktat dan *Bacillus* sp dari Saluran Pencernaan Ayam Buras Asal Lahan Gambut Sebagai Sumber Probiotik. *Jurnal AGRITEK (Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian, Teknologi Pertanian dan Kehutanan. Terakreditasi No. 026/DIKTI/KEP/2005. Agritek Edisi Khusus Dies Natalis IPM ke-16 November 2007. Halaman 74-78.*
- Manin F., Ella Hendalia, Yatno dan I. Putu Kompiang .2004. Potensi Saluran Pencernaan Itik Lokal Kerinci Sebagai Sumber Probiotik dan Implikasinya Terhadap Produktivitas Ternak dan Penanggulangan Kasus Salmonellosis. *Jurnal Peternakan dan Lingkungan Vol. 10 No.1 Feb. 2004. Hal.12-19. Akreditasi DITJEN DIKTI DEPDIKNAS No. 134/Dikti/Kep/2001. tgl 14 – 09 – 2001*
- Manin. F., Ella Hendalia, Yusrizal dan Nurhayati. 2006. Effect of Kerinci Duck's Intestinal Probiotic (*Bacillus circulans* and *Bacillus* sp) as Feed Additive on Broiler Performans. *Proceedings of The 4th ISTAP " Animal Production and Sustainable Agriculture in The Tropics" Faculty of Animal Science, Gajah mada University, November 8 – 9, 2006. p : 276 – 286.*
- Ray, B. 1996a. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press, Boca Raton, New York.
- Ray, B. 1996b. *Probiotics of lactic acid bacteria : Current advance in metabolism*, CRC Press, Boca Raton, New York.
- Yeo J, dan K. Kim. 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poultry Science* 76 (2) : 381 – 385.