

JUMLAH KOLONI BAKTERI SELULOLITIK PADA ILIUM AYAM KAMPUNG (*Gallus domesticus*)

Total Count of Cellulolytic Bacteria in Illium of Native Chicken (Gallus domesticus)

Nurjannaini¹, Safika², M. Jalaluddin³.

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

Corresponding author: Safikakhan@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menghitung jumlah koloni bakteri selulolitik pada ilium ayam kampung. Sampel yang digunakan yaitu isi ilium 5 ekor ayam kampung yang diambil di Tempat Pemotongan Unggas (TPU) Lambaro Aceh Besar. Sampel yang diperoleh dilakukan pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-5} , kemudian diinokulasi ke dalam media BHM-CMC agar dengan metode tuang (*pour plate*). Selanjutnya, diinkubasi dengan suhu 37°C selama 96 jam. Koloni bakteri selulolitik yang tumbuh kemudian dilakukan pengamatan morfologi koloni (warna, posisi, pinggiran, dan diameter koloni), diameter zona bening, penghitungan jumlah total bakteri dan pewarnaan Gram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat morfologi koloni berwarna putih bening, posisi di dalam dan di permukaan agar, pinggiran bergerigi, diameter koloni 2-4 mm dan zona bening 19 mm sampai 26 mm. Bakteri selulolitik berbentuk basil Gram negatif dan kokus Gram positif. Rata-rata jumlah total bakteri pada isi ilium ayam kampung yaitu $3,3 \times 10^5$ cfu/g.

Kata kunci : Ayam kampung, ilium, bakteri selulolitik, BHM-CMC Agar

ABSTRACT

The aim of this study was to count the total sum of cellulolytic bacteria colony in the illium of native chicken. The sample used was illium contents of native chicken whic taken from the poultry slaughterhouse at Lambaro Aceh Besar. Sample were diluted from 10^{-2} to 10^{-5} , then inoculated to agar BHM-CMC media with pour plate method. After that, incubated with temperature 37°C about 96 hours. A colony of cellulolytic bacteria which were grown then were observed by using colony bacteria criteria (colour, position, edge, and diameter of the colony), diameter of the bacterial zone, counting a total of bacteria which was grown, and Gram stain. The results showed that there is white translucent colony morphology, position inside and surface agar, cogged periphery, diameters of colony 2-4 mm and bacterial zone 19 to 26 mm. Cellulolytic bacteria Gram-negatif bacilli, Gram-negative cocci and Gram-positive cocci. The average number bacteria of total bacteria in the native chicken's illium was 3.3×10^5 cfu/g.

Keywords : Nattive Chicken, Illium, Cellulolytic Bacteria, BHM-CMC Agar.

PENDAHULUAN

Ayam kampung merupakan salah satu plasma nutfah yang mempunyai potensi penggerak ekonomi pedesaan (Wibowo dan Amanu, 2010). Salah satu ciri ayam kampung adalah sifat genetiknya yang tidak seragam, warna bulu, ukuran tubuh dan kemampuan produksinya tidak sama merupakan cermin dari keragaman genetiknya (Rasyaf, 1993). Pertumbuhan ayam dipengaruhi oleh komposisi pakan yang diberikan dan adanya zat-zat pembantu yang terdapat dalam pakan tersebut guna sebagai proses penyerapan nutrisi makanan (Iskandar dkk.,1991).

Pakan ayam umumnya terdiri dari dedak, hijauan hasil limbah rumah tangga, bekatul dan jagung. Dalam pakan tersebut terdapat berbagai macam serat kasar yang mengandung selulosa tinggi, sehingga merupakan komponen bahan pakan yang sulit dicerna oleh organ pencernaan unggas, selain itu keberadaan fraksi serat kasar dalam saluran pencernaan akan mempengaruhi pencernaan dan penyerapan zat-zat makanan lainnya termasuk protein, mineral dan vitamin (Yuwanta, 2014).

Ilium pada ayam merupakan tempat terjadinya penyerapan beberapa jenis serat yang sulit dicerna oleh unggas seperti selulosa (Amrullah, 2004). Supaya dapat diserap oleh unggas, selulosa terlebih dahulu harus diuraikan menjadi senyawa dengan berat molekul rendah, seperti monosakarida, disakarida, dan trisakarida. Proses penguraian tersebut melibatkan kompleks enzim selulase yang dihasilkan oleh mikroba (Wainwright, 2002). Enzim merupakan senyawa protein yang berfungsi sebagai katalisator pada reaksi-reaksi kimia dalam sistem biologis, semakin meningkat konsentrasi enzim maka semakin bertambah aktifitasnya sehingga semakin cepat dan banyak substrat yang dapat diuraikan menjadi komponen yang lebih sederhana dalam tubuh (Pelczar dan Chan, 1986).

Dalam saluran pencernaan ayam kampung terdapat berbagai macam bakteri yang menguntungkan diantaranya adalah bakteri selulolitik, bakteri selulolitik merupakan bakteri pendominasi saluran pencernaan unggas terbanyak setelah bakteri dari golongan amilolitik. Dimana bakteri tersebut mampu mendegradasi selulosa menjadi suatu zat yang lebih mudah diserap oleh tubuh (Rizal, 2006). Spring dkk., (2000) pada awal pertumbuhan ayam broiler terdapat bakteri selulolitik dalam usus halus dengan konsentrasi di bawah 10^5 cfu/g (*colony forming unit*). Pada saat ini kelompok bakteri selulolitik dari *Bacillus laterosporus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans* dan *Bacillus alvei* menjadi pendominasi (Sjofjan, 2007). Keberadaan bakteri selulolitik dalam organ pencernaan ayam akan dapat membantu menguraikan fraksi serat kasar yang terdapat dalam pakan, dengan menghasilkan enzim-enzim perombak selulosa dan hemiselulosa sehingga akan meningkatkan nilai serap gizi dari pakan yang diberikan.

MATERIAL DAN METODE PENELITIAN

Penelitian jumlah koloni bakteri selulolitik pada ilium ayam kampung ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh dan dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juli 2017. Sampel yang digunakan pada penelitian ini untuk mengisolasi bakteri selulolitik yaitu isi ilium dari 5 ekor ayam kampung berumur 8-12 minggu diambil di Tempat Pemotongan Unggas (TPU) Lambaro Kab. Aceh Besar. Sampel dimasukkan ke dalam plastik steril dan ditempatkan dalam *ice box*, kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

Bakteri selulolitik diisolasi dengan menggunakan media BHM-CMC agar. Dilakukan pengenceran pada sampel isi ilium ayam kampung. Pengenceran yang dilakukan adalah pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-5} . Hasil pengenceran, diambil 1 ml dengan menggunakan mikropipet dan dikultur ke dalam media BHM-CMC agar dengan metode tuang (*pour plate*) pada cawan Petri dan dihomogenkan. Pengenceran yang dikultur pada media adalah hanya pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-5} secara duplo. Cawan Petri yang berisi media BHM-CMC agar yang sudah mengeras, diinkubasi ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 96 jam (Singh dkk., 2013). Selanjutnya koloni yang tumbuh dihitung total bakteri selulolitik dengan mengalikan jumlah koloni dengan satu per faktor pengenceran yang dipakai. Jumlah koloni yang dipakai untuk menghitung total bakteri selulolitik adalah koloni yang berjumlah antara 25-250 cfu/g.

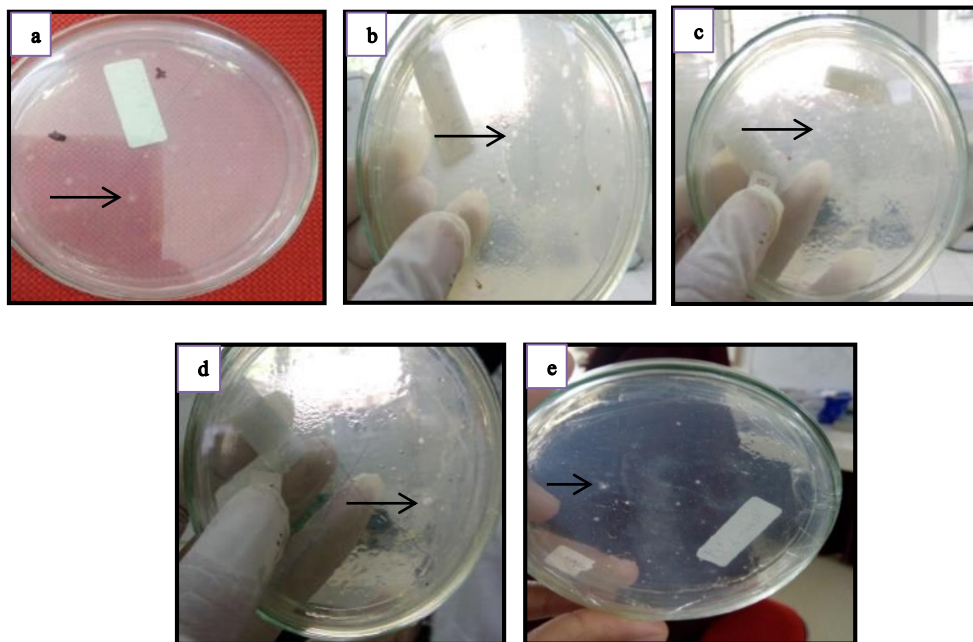
Jumlah total bakteri per ml dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Jumlah total bakteri} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Kemudian dilakukan uji kualitatif bakteri pada koloni yang dominan dan dilakukan pewarnaan Gram guna mengamati morfologi bakteri dan untuk membedakan bakteri Gram negatif dan positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri selulolitik yang berasal dari isi ilium ayam kampung dilakukan dengan menggunakan media BHM-CMC agar. Setelah diinkubasi selama 96 jam koloni bakteri yang tumbuh terlihat berwarna putih, dengan posisi menyebar di dalam dan di permukaan media dan pinggirannya tidak rata. Hasil Isolasi bakteri selulolitik pada media BHM-CMC agar dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Koloni bakteri tumbuh pada media BHM-CMC agar. (a) Pengenceran 10^{-2} dan (b) Pengenceran 10^{-3} . Pada gambar tampak zona bening yang menandakan koloni yang tumbuh mempunyai aktivitas selulase.

Pada penelitian ini koloni bakteri selulolitik yang tumbuh pada media BHM-CMC agar diamati morfologinya yang meliputi warna, bentuk, posisi, pinggirannya dan diameter koloni. Berdasarkan dari hasil pengamatan yang dilakukan, koloni bakteri yang tampak pada media umumnya berwarna putih dengan bentuk bulat, berada di dalam dan permukaan agar dan pinggirannya tidak rata, dengan diameter koloni yang bervariasi. Morfologi koloni bakteri selulolitik ayam kampung pada media BHM-CMC agar dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Morfologi koloni bakteri selulolitik

Koloni	Warna	Posisi	Pinggirannya	Diameter (mm)
1	Putih	Luar dan dalam agar	Tidak rata	3
2	Putih	Luar dan dalam agar	Tidak rata	2
3	Putih	Luar dan dalam agar	Tidak rata	3
4	Putih	Luar dan dalam agar	Tidak rata	4

5	Putih	Luar dan dalam agar	Tidak rata	3
---	-------	---------------------	------------	---

Wayulo (2007) menjelaskan beberapa sifat-sifat yang umum dimiliki oleh suatu koloni dalam media yaitu bentuk dari koloni ada yang bulat, memanjang, dengan tepi rata dan tidak rata. Dilihat dari halus kasarnya permukaan koloni ada yang halus dan ada permukaannya yang kasar sedangkan warna koloni ada yang putih atau kekuning-kuningan, coklat, merah, jingga, biru dan hijau, tergantung dari jenis bakteri itu sendiri.

Menghitung Jumlah Koloni dan Total Bakteri selulolitik

Hasil Penghitungan jumlah koloni bakteri selulolitik dari sampel ilium ayam kampung A, B, C, D dan E pada pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-5} yang tumbuh pada media BHM-CMC agar didapatkan hasil yaitu: Jumlah total koloni bakteri selulolitik pada sampel A adalah $9,6 \times 10^{-5}$, sampel B adalah $5,4 \times 10^{-5}$, sampel C adalah $7,9 \times 10^{-4}$, sampel D adalah $4,5 \times 10^{-4}$ dan sampel E adalah $2,7 \times 10^{-4}$ (cfu/g) dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan hasil diatas didapatkan rata-rata jumlah koloni bakteri selulolitik dari sampel ilium ayam kampung A, B, C, D, dan E adalah $3,3 \times 10^{-5}$.

Tabel 2. Jumlah rata-rata koloni bakteri selulolitik pada ilium ayam kampung.

Sampel ilium ayam kampung	Jumlah koloni bakteri
Sampel A	$9,6 \times 10^{-5}$
Sampel B	$5,4 \times 10^{-5}$
Sampel C	$7,9 \times 10^{-4}$
Sampel D	$4,5 \times 10^{-4}$
Sampel E	$2,7 \times 10^{-4}$
Jumlah rata-rata	$3,3 \times 10^{-5}$

Berdasarkan hasil yang diperoleh di atas maka dihitung jumlah total bakteri selulolitik sampel ilium ayam kampung A, B, C, D dan E:

$$\text{Jumlah Bakteri} = \text{Jumlah Koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

$$= 3,3 \times \frac{1}{10^{-5}}$$

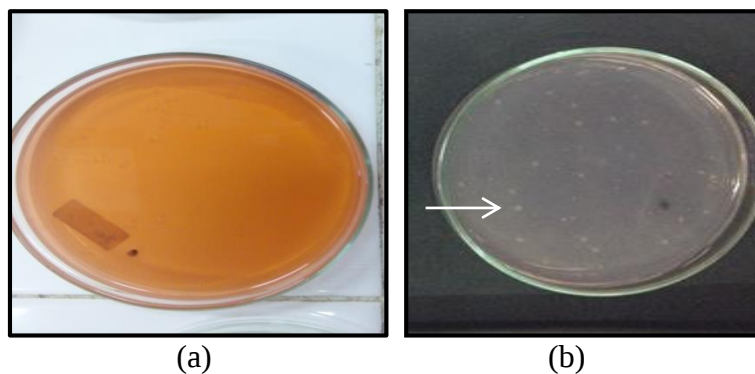
$$= 3,3 \times 10^5 \text{ cfu/g}$$

Jumlah bakteri selulolitik pada ilium ayam kampung adalah $3,3 \times 10^5$ cfu/g. Hasil penelitian jumlah rata-rata bakteri selulolitik pada isi ilium ayam kampung ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Spring dkk., (2000) dimana pada awal pertumbuhan ayam broiler terdapat bakteri selulolitik di dalam usus halus dengan konsentrasi dibawah 10^5 cfu/g. Salah satu penyebabnya diduga karena sifat pemeliharaan ayam kampung yang ekstensif tradisional dan juga dapat disebabkan oleh jenis pakan yang dikonsumsi ayam yang umumnya terdiri dedak dengan hijauan hasil limbah rumah tangga, bekatul dan jagung yang sulit

didegradasi oleh tubuh ayam, maka proses degradasi dilakukan oleh mikroorganisme seperti bakteri selulolitik.

Hasil Uji Kualitatif Bakteri Selulolitik

Untuk mengetahui diameter zona bening bakteri, dilakukan uji kualitatif bakteri selulolitik, koloni bakteri yang tumbuh pada media BHM-CMC agar ditetesi reagen *congo red* 0,3% kemudian dibilas dengan larutan NaCl 1 M selama 20 menit untuk melihat adanya aktivitas enzim selulase berdasarkan zona bening disekitar koloni. Bakteri yang memiliki aktivitas enzim selulase tinggi dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa dan menunjukkan zona bening yang besar disekitar koloni (Hartanti, 2010). Setiap koloni diukur luas diameter zona bening dengan menggunakan penggaris ukur, sehingga diketahui diameter setiap koloni yang mempunyai zona bening seperti dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil isolasi bakteri selulolitik dari isi ilium didapatkan koloni yang mempunyai diameter zona bening terluas yaitu dengan luas diameter zona bening 26 mm dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 2. Koloni bakteri yang telah ditetesi reagen *congo red* 0,3% (a). Media sebelum dicuci NaCl, (b). Media sesudah dicuci NaCl.

Tabel 3. Diameter zona bening masing-masing koloni bakteri yang diberi pewarna *congo red*.

No.	Isolat bakteri	Zona bening bakteri (mm)
1	Isolat bakteri 1	26
2	Isolat bakteri 2	19
3	Isolat bakteri 3	23
4	Isolat bakteri 4	26
5	Isolat bakteri 5	25

Bakteri yang memiliki aktivitas enzim selulase tinggi dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa dan menunjukkan zona bening yang besar disekitar koloni, diameter zona bening yang terbentuk menunjukan secara kualitatif tingginya kemampuan selulolitik enzim selulase yang dihasilkan atau tingginya jumlah enzim yang diproduksi dan dilepas keluar. Keberadaan enzim selulase sangat penting bagi kehidupan bakteri karena dapat menyediakan kebutuhan sumber energi (Hartanti, 2010). Zona bening yang terbentuk menjadi indikator bahwa bakteri yang diidentifikasi merupakan penghasil selulase karena mampu memecah CMC menjadi gula yang lebih sederhana sebagai alternatif sumber karbon (Himedia, 2015).

Pewarnaan Gram

Beberapa jenis koloni bakteri yang berbeda berdasarkan pengamatan morfologi koloni selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram dapat dilihat pada Tabel 4. Koloni yang ditemukan pada umumnya adalah bakteri Gram negatif.

Tabel 4. Morfologi bakteri selulolitik hasil pewarnaan Gram

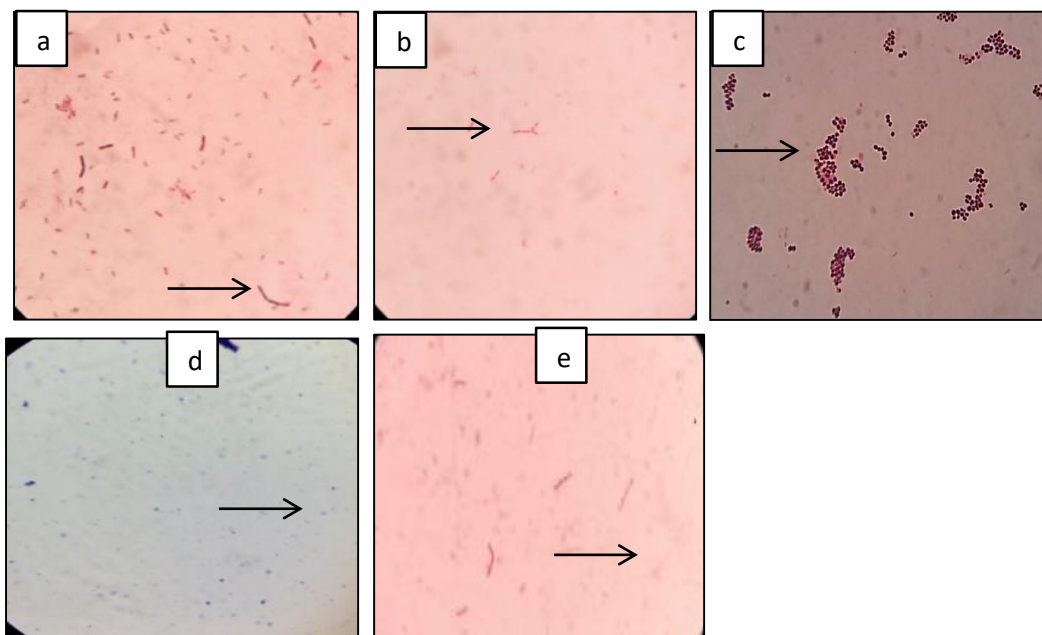
Koloni	Bentuk	Pewarnaan Gram
Koloni 1	Basil	-
Koloni 2	Basil	-
Koloni 3	Kokus	+
Koloni 4	Kokus	+
Koloni 5	Basil	-

Ket. + : Positif - : Negatif

Koloni yang didapatkan dari hasil penelitian ini adalah 3 bakteri Gram negatif dan 2 bakteri Gram positif. Koloni 1 berwarna merah berbentuk batang/basil, pada koloni 2 berwarna merah berbentuk batang/basil, koloni 3 berwarna ungu berbentuk bulat/kokus, sedangkan pada koloni 4 berwarna ungu berbentuk bulat/kokus dan koloni 5 berwarna merah berbentuk batang/basil.

Pewarnaan Gram adalah metode yang digunakan untuk membedakan bakteri Gram positif atau bakteri Gram negatif berdasarkan warna yang tampak dibawah mikroskop. Pewarnaan Gram selain digunakan untuk membedakan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif, juga digunakan untuk mengetahui bentuk bakteri dan susunan bakteri. Bakteri Gram Positif merupakan bakteri yang dapat mempertahankan zat warna gentian violet pada proses pewarnaan Gram. Bakteri golongan ini akan memperlihatkan warna biru keunguan (violet), sedangkan bakteri Gram negatif menyerap zat safranin dan akan berwarna merah muda pada saat dilakukan pengamatan dibawah mikroskop (Cappucino dkk., 2001).

Perbedaan warna pada bakteri Gram positif dan Gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi. Hasil pewarnaan Gram dari isolat isi ilium ayam kampung dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 6. Hasil pewarnaan Gram terhadap koloni bakteri selulolitik berdasarkan zona bening pada media BHM-CMC agar. a. Bakteri Gram negatif, b. Bakteri Gram negatif, c. Bakteri Gram positif, d. Bakteri Gram positif dan e. Bakteri Gram negatif. Pembesaran 10 x100

Bakteri Gram negatif mengandung lipid atau substansi seperti lipid dalam persentase lebih tinggi dari pada yang dikandung bakteri Gram positif. Bakteri Gram negatif juga memiliki dinding sel yang lebih tipis dibandingkan bakteri Gram positif. Warna yang diperoleh dari pewarnaan Gram adalah berdasarkan kemampuan bakteri untuk menahan pewarna primer (Kristal violet) atau kehilangan warna primer dan mempertahankan warna tandingan (safranin). Bakteri Gram positif akan menunjukkan warna ungu sedangkan untuk bakteri Gram negatif akan menunjukkan warna merah (Anuar dkk., 2014).

Perbedaan reaksi kedua golongan bakteri terhadap pewarnaan Gram disebabkan oleh bakteri Gram positif memiliki dinding sel tebal yang terdiri dari peptidoglikan dan asam teikoat yang akan menyebabkan pori-porinya tertutup dan mencegah keluarnya kompleks pewarna primer sehingga kristal violet melekat pada saat pembilasan dengan alkohol, sedangkan dinding sel Gram negatif mengandung sedikit peptidoglikan dan banyak lipid yang akan larut dalam alkohol pada saat pembilasan sehingga safranin akan terikat (Cappucino dkk., 2001).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pada ilium ayam kampung ditemukan koloni bakteri selulolitik dengan jumlah bakteri selulolitik sebesar $3,3 \times 10^5$ cfu/g.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrullah, I.K. 2004. *Nutrisi Ayam Broiler*. Jilid III. Lembaga Satu Gunung Budi, Bogor.
- Anuar, W., A. Dahliaty, dan C. Jose. 2014. Isolasi bakteri selulolitik dari perairan Dumai. *Jurnal of Mipa*.1(2): 3-6.
- Cappucino, J.G., and N. Sherman. 2001. *Microbiology: A Laboratory Manual*, Benjamin Cummings Publishing, United State of America.
- Hartanti. 2010. Isolasi dan Seleksi Bakteri Selulolitik Termofilik dari Kawah Air Panas Gunung Pancar, Bogor. *Skripsi*. FMIPA IPB, Bogor.
- Himedia. 2015. Bushnell Haas Agar. Swastik Disha Business Park, Via Vadhani Ind. Est., LBS Marg, Mumbai. India.
- Iskandar, S., E. Juarini, D. Zainuddin, H. Resnawati, B. Wibowo dan Sumanto. 1991. Teknologi tepat guna ayam buras. *Laporan Hasil Penelitian*. Balai Penelitian Ternak Bogor. Bogor
- Pelczar, M.J, and E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Penerjemah: R.S. Hadioetomo, T. Imas and S.S. Tjitrosomo. UI Press, Jakarta.
- Rasyaf, M. 1993. *Memelihara Ayam Buras*. Kanisius, Yogyakarta.
- Rizal, Y. 2006. *Ilmu Nutrien Unggas*. Andalas University Press. Padang.
- Sigma-Aldrich. 2015. Dopamine and Norepinephrine Metabolism. [Online] Available:<http://www.sigmaaldrich.com/technicaldocuments/articles/bio.04> November 2015.
- Singh, S., V.S. Moholkar, and A. Goyal. 2013. Isolation, identification, and characterization of a cellulolytic bacillus amyloliquefaciens strain. *J. Kaunia*.10(2):92-102.
- Sjofjan, O. 2007. Isolasi dan Identifikasi *Bacillus spp* dari Usus Ayam Petelur Sebagai Sumber Probiotik. *Jurnal Universitas Brawijaya*. Malang.
- Spring, P., W. C, Dawson, and K.A, Newman. 2000. The effects of dietary mannan oligosaccharides on caecal parameters and concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenge broiler chicks. *poultry Sci*. 79:205-211.

- Wainwright, M. 2002. *An Introduction to Fungal Biotechnology*. John Wiley and Sons Ltd. Baffins Lane, Chichester, England.
- Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press, Malang.
- Wibowo, M.H dan S. Amanu. 2010. Perbandingan beberapa program vaksinasi penyakit Newcastle pada ayam buras. *Jurnal Sain Vet*. 28(1):27-35.
- Yuwanta, T. 2014. *Dasar Ternak Unggas*. Kanisius, Yogyakarta.