

# ISOLASI *Bacillus* PENGHASIL PROTEASE DARI SALURAN PENCERNAAN AYAM KAMPUNG

Sumardi<sup>1\*</sup> dan Dewi Lengkana<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi FMIPA Unila, Jl. S. Brojonegoro No.1, B. Lampung 35145

<sup>2</sup>PS Biologi Jurusan MIPA FKIP Unila, Jl. S. Brojonegoro No.1, B. Lampung 35145

\*Penulis untuk korespondensi, HP 085216391087 email: sumardi@yahoo.co.id

---

## Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri *Bacillus* penghasil protease pada saluran pencernaan ayam kampung dan karakterisasinya meliputi pH dan suhu. Sampel diambil dari pakan yang telah mengalami pelunakan di proventrikulus dan tembolok, bolus dari dalam ampela, sari-sari makanan dari usus halus dan kotoran yang berasal dari usus besar ayam kampung. Hasil isolasi menunjukkan terdapat bakteri *Bacillus* (Isolat APP-4) penghasil protease pada saluran pencernaan ayam kampung. Isolat APP-4 merupakan isolat bakteri dengan indeks proteolitik tertinggi. Enzim protease ekstraseluler yang dihasilkan oleh isolat APP-4 memiliki aktivitas katalitik yang optimum pada pH 5 (0,160 U/mg) dan suhu 40°C (0,091 U/mg).

---

**Kata kunci:** bakteri proteolitik, pH, suhu

## PENDAHULUAN

Di beberapa negara maju, usaha peningkatan kualitas ternak terus dilakukan. Banyak penelitian memperlihatkan bahwa suplemen mikroba dalam pakan ternak unggas berpotensi meningkatkan nilai nutrisinya (Budiansyah, 2004). Di dalam saluran gastrointestinal (saluran pencernaan) ayam kampung proses pencernaan dibantu oleh sejumlah mikroorganisme. Mikroorganisme ini berperan dalam mengontrol mikroba patogen.

Bakteri *Bacillus* mempunyai kemampuan untuk pengontrolan bakteri patogen (Borrow, 1992, dalam Purwadaria dkk, 2003). Atas pertimbangan tersebut perlu diteliti bakteri *Bacillus* penghasil enzim protease dari saluran pencernaan ayam kampung untuk dijadikan kandidat probiotik. Enzim protease merupakan enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis protein menjadi asam amino.

Penelitian ini bertujuan untuk: mengetahui apakah ada *Bacillus* penghasil protease pada saluran pencernaan ayam kampung dan mengetahui karakterisasi enzimnya.

## METODE PENELITIAN

**Isolasi bakteri *Bacillus* penghasil protease dari saluran pencernaan (saluran gastrointestinal) ayam kampung.**

Untuk mendapatkan isolat *Bacillus* penghasil protease dilakukan dengan mengisolasi bakteri dari kotoran yang terdapat pada saluran pencernaan ayam kampung. Saluran pencernaan ayam kampung yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tembolok, ampela, proventrikulus, usus halus dan usus besar. Sebelum melakukan isolasi, sampel diinkubasi terlebih dahulu pada suhu 80°C selama 15 menit, hal ini dilakukan untuk mendapatkan bakteri berspora. Kemudian secara aseptis sampel tersebut dimasukkan dalam media pengkayaan (enrichment) dengan komposisi pepton 1 gram, beep ekstrak 0,6 gram, aquades 1000 ml, dan skim milk 10 gram lalu diinkubasi selama 2 hari pada suhu 37°C. Setelah itu sebanyak 1 ml sampel kultur diencerkan secara serial dari 10<sup>-1</sup> sampai 10<sup>-4</sup>, dan dari suspensi diambil 1 ml untuk diinokulasikan pada media skim milk agar (pepton 1 gram, beep ekstrak 0,6 gram, aquades 1000 ml, skim milk 10 gram, dan agar 15 gram) dengan menggunakan metode tabur. Kemudian diinkubasi selama 1 hari pada suhu 37°C untuk mengetahui keberadaan bakteri penghasil protease. Adanya bakteri proteolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri. Indeks proteolitik didapat dengan cara menghitung luas zona jernih di sekitar koloni

bakteri berbanding luas koloni isolat bakteri atau ditulis dengan rumus:  $I = \text{luas zona total} / \text{luas koloni isolat}$  (Rosenawati, 1996). Selesai masa inkubasi koloni yang tumbuh diamati dengan melihat pertumbuhan dan morfologi koloni meliputi tepi, ukuran, bentuk, warna (Aaronson, 1970). Koloni bakteri yang diperoleh dimurnikan ke media pertumbuhan.

### Produksi Enzim

Isolat bakteri proteolitik yang telah didapatkan diambil 1 ose kemudian diinokulasikan ke dalam media diperkaya (pepton 1 gram, beef ekstrak 0,6 gram, aquades 1000 ml, dan skim milk 10 gram). Isolat tersebut kemudian diinkubasi selama 10 jam pada suhu 37<sup>o</sup> C, kultur ini digunakan sebagai starter. Kemudian sebanyak 2,5 ml starter diinokulasikan ke dalam medium produksi dan diinkubasi selama 1 hari pada suhu 37<sup>o</sup> C. Setelah masa inkubasi, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 15.000 rpm pada suhu 4<sup>o</sup> C sehingga terbentuk cairan supernatan enzim. Supernatan enzim yang diperoleh tersebut kemudian disimpan dalam medium penyimpanan pada suhu 4<sup>o</sup> C untuk digunakan dalam pengujian aktivitas enzim protease.

### Pengujian aktivitas protease

Pengujian aktivitas protease menggunakan metode Walter (1984) dalam Kurniati (2006). Adapun langkah kerjanya adalah sebagai berikut:

- a. Menentukan nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer. Adapun cara kerjanya dapat dilihat pada tabel berikut:

Buffer phosphat 0,01 M sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi masing-masing *blanko*, *standar*, *sampel*. Kemudian ditambahkan substrat kasein 20 mg/ml sebanyak 0,5 ml. Pada tabung reaksi *sampel* ditambahkan enzim sebanyak 0,1 ml. Pada tabung reaksi *standar* ditambahkan tirosin standar 5µmol/ml. Pada tabung reaksi *blanko* ditambahkan akuades sebanyak 0,1 ml. Setelah itu ketiga tabung di vorteks dan diinkubasi di *shaker incubator* selama 10 menit dengan suhu 37<sup>o</sup>C. Setelah waktu inkubasi ditambahkan TCA pada semua tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 ml. Pada tabung reaksi *sampel* dimasukkan akuades sebanyak 0,1 ml dan pada tabung reaksi *blanko* dan *standar* ditambahkan enzim masing-masing sebanyak 0,1 ml. Kemudian ketiga tabung divorteks dan diinkubasi pada *shaker incubator* selama 10 menit pada suhu 37<sup>o</sup>C. Setelah masa inkubasi, disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Setelah disentrifuse, masing-masing filtrat diambil sebanyak 0,75 ml dan dimasukkan pada tabung reaksi yang baru. Filtrat yang baru dipindahkan ditambahkan dengan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> masing-masing sebanyak 2,5 ml. Kemudian ditambahkan fenol folin masing-masing sebanyak 0.5 ml. Kemudian ketiga tabung reaksi di vorteks dan diinkubasi pada suhu 37<sup>o</sup>C selama 20 menit. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 578 nm.

- b. Menentukan unit aktivitas permenit per ml enzim, digunakan rumus perhitungan aktifitas protease sebagai berikut:

$$U = \frac{\text{Asp} - \text{Abl}}{\text{Ast} - \text{Abl}} \times \frac{1}{T} \times 5 \mu\text{mol/ml}$$

$$\text{Ast} - \text{Abl} \quad T$$

Keterangan = U : Unit aktifitas permenit per ml enzim

Asp : Nilai absorbansi sample

Ast : Nilai absorbansi standar

Abl : Nilai absorbansi Blanko

T : Waktu Inkubasi (menit)

### Penentuan pH optimum enzim protease

Untuk menentukan pH optimum enzim protease digunakan *buffer sitrat* untuk pH 4, pH 5 dan pH 6 serta *buffer Tris HCL* untuk pH 7, pH 8 dan pH 9.

### Penentuan suhu optimum enzim protease

Untuk menentukan suhu optimum enzim protease menggunakan suhu 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C.

### Pengukuran kadar protein dengan metode Bradford

Penentuan kadar protein diperlukan untuk menentukan aktivitas spesifik enzim. Pengukuran kadar protein dilakukan dengan metode *Bradford*. Adapun langkah kerjanya adalah sebagai berikut:

- Membuat larutan *Bradford* dengan melarutkan 100 mg *Coomassie Brilliant Blue R 250*, 50 ml etanol 95%, dan 100 ml H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85% dalam 1000 ml akuades.
- Membuat kurva standar BSA dengan konsentrasi 0,50,100,150, dan 200 µg/ml.

Pengukuran kadar protein enzim dilakukan dengan melarutkan 0,1 ml enzim ke dalam 2 ml larutan *Bradford* kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Penelitian

#### Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Protease

Isolasi bakteri penghasil protease pada beberapa saluran pencernaan ayam kampung (proventrikulus, tembolok, ampela, usus halus dan usus besar) telah dilakukan. Bakteri- bakteri tersebut dibiakkan dalam media *skim milk*, agar, dan *nutrien broth*. Setelah 24 jam, ditemukan ada 52 isolat bakteri yang mempunyai indeks proteolitik yang berbeda- beda. Perbedaan indeks proteolitik yang dihasilkan oleh isolat bakteri dari macam- macam saluran pencernaan ayam kampung tersaji secara lengkap (Tabel 1).

**Tabel 1. Indeks proteolitik isolat bakteri yang diperoleh dari saluran pencernaan ayam kampung.**

| No | Nama Organ     | Kode   | Indeks Proteolitik (mm) |
|----|----------------|--------|-------------------------|
| 1  | Proventrikulus | APP-1  | 5,60                    |
| 2  |                | APP-2  | 11,05                   |
| 3  |                | APP-3  | 4,71                    |
| 4  |                | APP-4  | 14,66                   |
| 5  |                | APP-5  | 5,89                    |
| 6  |                | APP-6  | 4,9                     |
| 7  |                | APP-7  | 6,71                    |
| 8  |                | APP-8  | 3,33                    |
| 9  |                | APP-9  | 3,47                    |
| 10 |                | APP-10 | 11,73                   |
| 11 |                | APP-11 | 8,61                    |
| 12 |                | APP-12 | 7,24                    |
| 13 |                | APP-13 | 9,82                    |
| 14 | Tembolok       | ATP-1  | 1,33                    |
| 15 |                | ATP-2  | 6,03                    |
| 16 |                | ATP-3  | 4,22                    |
| 17 |                | ATP-4  | 4,09                    |
| 18 |                | ATP-5  | 9,7                     |
| 19 | Ampela         | AAP-1  | 6,6                     |
| 20 |                | AAP-2  | 6,28                    |

|    |  |        |      |
|----|--|--------|------|
| 21 |  | AAP-3  | 5,89 |
| 22 |  | AAP-4  | 6,21 |
| 23 |  | AAP-5  | 6    |
| 24 |  | AAP-6  | 6,28 |
| 25 |  | AAP-7  | 7,15 |
| 26 |  | AAP-8  | 4,52 |
| 27 |  | AAP-9  | 3,84 |
| 28 |  | AAP-10 | 3,47 |
| 29 |  | AAP-11 | 2,94 |
| 30 |  | AAP-12 | 4,45 |
| 31 |  | AAP-13 | 4,63 |
| 32 |  | AAP-14 | 3,6  |
| 33 |  | AAP-15 | 3,69 |

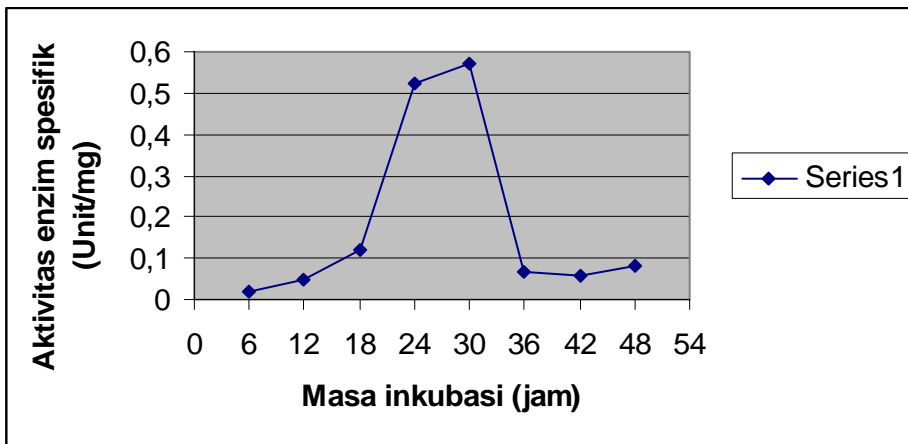
| No | Nama Organ | Kode   | Indeks Proteolitik(mm) |
|----|------------|--------|------------------------|
| 34 | Ampela     | AAP-16 | 4,82                   |
| 35 |            | AAP-17 | 2,35                   |
| 36 |            | AAP-18 | 3,49                   |
| 37 |            | AAP-19 | 5,61                   |
| 38 | Usus Halus | AIP-1  | 7,17                   |
| 39 | Usus Besar | ACP-1  | 9,26                   |
| 40 |            | ACP-2  | 7,17                   |
| 41 |            | ACP-3  | 14,53                  |
| 42 |            | ACP-4  | 5,32                   |
| 43 | Usus Besar | ACP-5  | 12,53                  |
| 44 |            | ACP-6  | 5,42                   |
| 45 |            | ACP-7  | 8,05                   |
| 46 |            | ACP-8  | 12,75                  |
| 47 |            | ACP-9  | 10,42                  |
| 48 |            | ACP-10 | 9                      |
| 49 |            | ACP-11 | 9,26                   |
| 50 |            | ACP-12 | 10,14                  |
| 51 |            | ACP-13 | 9,42                   |
| 52 |            | ACP-14 | 52                     |

Keterangan: APP = Ayam kampung *proventrikulus* protease  
 ATP = Ayam kampung tembolok protease  
 AAP = Ayam kampung ampela protease  
 AIP = Ayam kampung *intestine* protease  
 ACP = Ayam kampung *colon* protease

Berdasarkan tabel 1 di atas, isolat bakteri yang menghasilkan indeks proteolitik tertinggi (52 mm) adalah isolat ACP-14 yang diisolasi dari usus besar, sedangkan indeks terendah (1,33 mm) dihasilkan oleh isolat ATP-1 yang diisolasi dari tembolok. Dari 52 isolat di atas terpilih 4 isolat (ACP-14, APP-4, ACP-3, dan ACP-8) yang kemudian dimurnikan selama 20 kali. Proses pemurnian ini bertujuan untuk mengetahui isolat mana yang tetap menghasilkan indeks proteolitik tertinggi hingga ke-20 kali. Setelah pemurnian yang ke-20 diketahui bahwa isolat yang tetap menghasilkan indeks proteolitik tertinggi yaitu isolat APP-4. Isolat ini selanjutnya digunakan untuk uji aktivitas protease.

### Penentuan pH dan Suhu Optimum untuk Aktivitas Enzim Protease yang Dihasilkan oleh Isolat APP-4

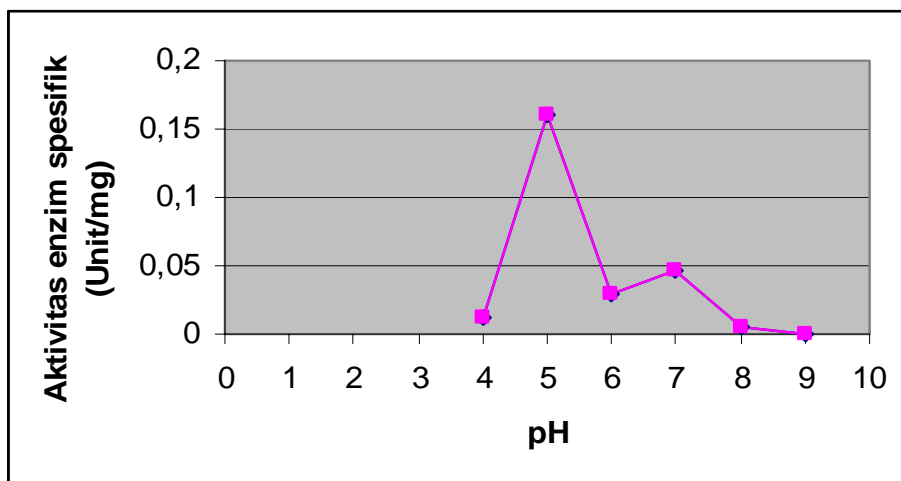
Untuk menentukan pH dan suhu optimum bagi aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh isolat APP-4, terlebih dahulu dilakukan penentuan masa inkubasi yang memiliki nilai aktivitas proteolitik tertinggi. Dari keseluruhan masa inkubasi yang diteliti (6 jam, 12 jam, 18 jam, 24 jam, 30 jam, 36 jam, 42 jam dan 48 jam) ternyata masa inkubasi terbaik adalah 30 jam. Hasil secara lengkap dapat dilihat pada gambar 1.



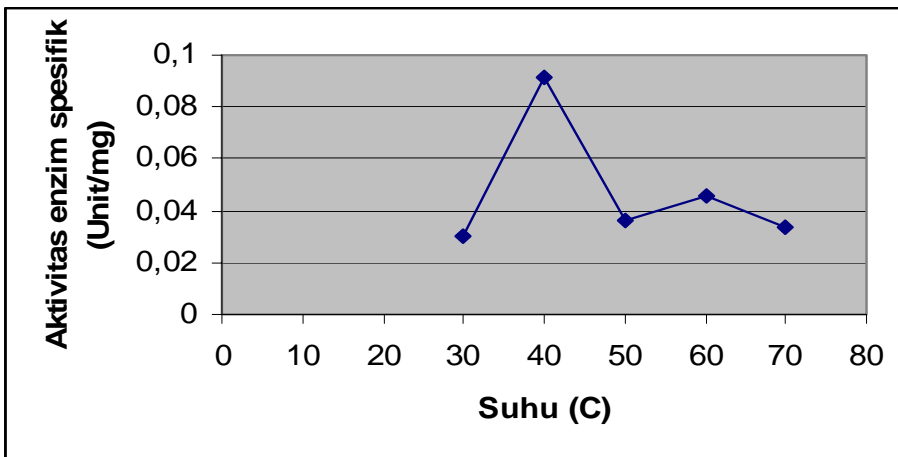
**Gambar 1. Aktivitas enzim spesifik masa inkubasi jam ke-6 sampai jam ke-48**

Berdasarkan grafik pada gambar 1 di atas diketahui bahwa ada peningkatan aktivitas enzimatis dari masa inkubasi 6 jam (0,019 U/mg), 12 jam (0,048 U/mg), 18 jam (0,118 U/mg), 24 jam (0,524 U/mg), sampai 30 jam (0,569 U/mg). Kemudian ada penurunan aktivitas enzimatis dari masa inkubasi 36 jam (0,065 U/mg), 42 jam (0,057 U/mg) dan 48 jam (0,080 U/mg).

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa pH optimum untuk aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh isolat APP-4 yaitu pH 5, sedangkan suhu optimumnya yaitu 40<sup>o</sup> C. Hasil secara lengkap dapat dilihat pada gambar 2 dan gambar 3.



**Gambar 2. pH optimum aktivitas enzim protease isolat APP-4.**



**Gambar 3. Suhu optimum aktivitas enzim protease isolat APP-4.**

Berdasarkan grafik pada gambar 2 di atas diketahui bahwa ada peningkatan aktivitas enzimatis dari pH 4 (0,012 U/mg) sampai pH 5 (0,160 U/mg). Selanjutnya ada penurunan aktivitas enzimatis dari pH 6 (0,029 U/mg), pH 7 (0,047 U/mg), pH 8 (0,0048 U/mg), dan pH 9 (0 U/mg).

Berdasarkan grafik pada gambar 3 di atas diketahui bahwa ada peningkatan aktivitas enzimatis dari suhu 30°C (0,030 U/mg) sampai 40°C (0,091 U/mg). Kemudian ada penurunan aktivitas enzimatis dari suhu 50°C (0,036 U/mg), 60°C (0,046 U/mg) dan 70°C (0,034 U/mg).

## Pembahasan

### Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Protease

Untuk menghasilkan banyak sedikitnya enzim dipengaruhi beberapa faktor yaitu suhu, pH dan substrat. Dalam penelitian ini faktor suhu, pH dan substrat dalam media uji sama yaitu suhu 40°C, pH 7, dengan substrat media *skim mik* agar. Berdasarkan hasil penelitian di atas ditemukan ada 52 isolat bakteri proteolitik. Aktivitas enzim protease dari 52 isolat bakteri yang diperoleh dari beberapa saluran pencernaan ayam kampung berbeda-beda. Kemampuan proteolitik yang berbeda disebabkan karena masing-masing spesies mikroba membutuhkan kultur optimum seperti pH, suhu dan nutrisi yang berbeda untuk memproduksi enzim dalam jumlah maksimal (Atlas, 1995).

Selain itu, faktor genetik juga mempengaruhi besarnya produksi enzim. Gen menentukan suatu pembentukan enzim yang berperan dalam rangkaian reaksi kimia pada saat berlangsungnya metabolisme sel yaitu anabolisme dan katabolisme. Gen setiap mikroorganisme berbeda-beda sehingga masing-masing mikroorganisme memiliki sifat yang berbeda. Dari tiap gen memiliki sifat yang spesifik untuk mengkode enzim-enzim tertentu. Beberapa jenis gen menurut fungsinya yaitu gen pengatur dan gen struktural. Gen struktural menentukan struktur enzim yaitu urutan asam aminonya sedangkan gen pengatur mengarahkan laju sintesis enzim (Pelczar, 1986).

Dari ke 52 isolat tersebut, bakteri yang diisolasi dari proventrikulus (isolat APP-4) memiliki indeks proteolitik tertinggi, hal ini disebabkan karena proventrikulus merupakan tempat memulai terjadinya pencernaan protein (Sudaryani dan Santoso, 1993). Dengan demikian, bakteri harus mensintesis enzim protease dalam jumlah yang banyak agar proses pencernaan protein dapat lebih maksimal. Selain menghasilkan enzim protease isolat APP-4 juga menghasilkan enzim lipase. Hal ini dapat dilihat dari kemampuan isolat APP-4 untuk hidup dalam media yang mengandung substrat minyak zaitun dan *Rhodamin-B*.

Selain itu, tingginya indeks proteolitik isolat APP-4 kemungkinan disebabkan karena isolat tersebut memiliki kemampuan yang cepat dalam mensintesis dan mendegradasi asam amino.

Menurut Nurhalim (1992, dalam Nadeak, 2005) jumlah enzim di dalam sel sangat bergantung pada kecepatan mensintesis dan mendegradasi asam amino, karena pada dasarnya dalam semua bentuk kehidupan, enzim disintesis dari asam amino dan didegradasi menjadi asam amino.

Setiap spesies bakteri memiliki batas toleransi tertentu pada parameter lingkungan tertentu. Fleksibilitas mikroba dalam menyesuaikan diri pada lingkungan yang berbeda nampak pada perubahan ekspresi genetik (Atlas, 1995). Bakteri proteolitik yang paling mampu bertoleransi dengan lingkungan akan menghasilkan enzim protease dengan indeks tertinggi. Kemungkinan lain yang menyebabkan isolat APP-4 memiliki indeks proteolitik tertinggi adalah karena substrat yang digunakan dalam media uji merupakan substrat yang sesuai bagi enzim yang dihasilkan oleh isolat APP-4. Enzim tersebut mendegradasi protein menjadi asam amino yang langsung digunakan oleh bakteri.

#### **Penentuan pH dan Suhu Optimum untuk Aktivitas Enzim Protease yang Dihasilkan oleh Isolat APP-4**

Ketika aktivitas sebagian besar enzim diukur pada berbagai nilai pH, aktivitas optimum secara khas terlihat di antara nilai-nilai pH 5 dan pH 9 (Murray, 2003). Aktivitas katalitik enzim di dalam sel mungkin di atur oleh perubahan pada pH medium lingkungan (Lehninger, 2005). Berdasarkan hasil penelitian di atas diketahui bahwa aktivitas proteolitik yang dihasilkan oleh isolat APP-4 mencapai optimum pada pH 5, hal ini disebabkan karena bakteri tersebut diisolasi dari proventrikulus, dimana proventrikulus bersifat asam yang berkisar pada pH 5 (Zahirotul dkk, 2006). Kondisi lingkungan yang bersifat asam menyebabkan terjadinya protonisasi sisi aktif enzim. Hal ini terjadi karena protonisasi sisi aktif dan pH optimum enzim tergantung pada nilai pH lingkungan dimana enzim berada (Winarno, 1995).

Pada pH 5, gugus pemberi atau penerima proton yang penting pada sisi katalitik enzim berada pada tingkat ionisasi yang diinginkan. Pada kondisi ini terjadi protonisasi sisi asam amino pada sisi aktif enzim, yaitu gugus yang berperan pada proses katalitik melepaskan protonnya sehingga enzim menjadi aktif dan dapat berikatan dengan substrat. Pada sisi aktif enzim yang mengalami protonisasi, gugus yang berperan dalam proses katalitik akan melepaskan ion hidrogen sehingga sisi aktif enzim akan menjadi bermuatan negatif dan akan berikatan dengan substrat yang bermuatan positif.

Selain pH, suhu juga merupakan salah satu faktor lingkungan penting dalam aktivitas suatu enzim. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa enzim protease yang dihasilkan oleh isolat APP-4 mencapai aktivitas yang optimum pada suhu 40 °C. Hal ini disebabkan karena sebagian besar enzim memiliki suhu optimum yang bergantung pada suhu sel tempat enzim itu terdapat atau sedikit melebihi suhu sel tersebut (Murray, 2003).

Suhu optimum enzim di atas sesuai dengan suhu tubuh normal ayam kampung yang berkisar sekitar 40 °C. Pada suhu tersebut terjadi peningkatan energi kinetik molekul enzim dan juga meningkatkan gerakan molekul- molekul reaktan sehingga peluang terjadinya tumbukan antara molekul dan substrat semakin besar. Akibatnya semakin besar pula peluang molekul enzim berikatan dengan substrat sehingga produk yang dihasilkan semakin banyak (Roosdiana, 2003). Pada suhu inilah aktivitas enzim mencapai optimal.

Selanjutnya, terjadi penurunan aktivitas enzim pada kenaikan suhu di atas 40°C. Penurunan aktivitas ini dapat diakibatkan karena terjadi denaturasi termal dari substrat kasein maupun dari enzim protease. Suhu yang tinggi akan merusak struktur tiga dimensi enzim dan memutuskan ikatan-ikatan lemah pada protein enzim. Denaturasi akan mengganggu ikatan hidrogen, ikatan ionik, dan interaksi lemah lainnya yang menstabilkan konformasi aktif enzim. Putusnya ikatan-ikatan lemah tersebut akan merubah struktur tiga dimensi dari enzim, sehingga enzim tidak mampu lagi mengikat substrat karena sisi spesifik untuk substrat telah berubah. Aktivitas enzimatis pada suhu di bawah 40°C juga rendah, hal ini disebabkan karena molekul substrat bertubrukan dengan tempat aktif secara lambat. Kecepatan suatu reaksi enzimatis dapat terjadi apabila suhu ditingkatkan sampai batas tertentu (Campbell dan Mitchel, 2007).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ada bakteri *Bacillus* penghasil protease pada saluran pencernaan ayam kampung dengan aktivitas yang tinggi. Enzim protease ekstraseluler yang dihasilkan oleh isolat APP-4 memiliki aktivitas katalitik yang optimum pada pH 5 (0,160 U/mg) dan suhu 40°C (0,091 U/mg).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada DP2M Dikti yang telah mendanai penelitian ini dengan dana Penelitian Hibah Fundamental tahun 2008 dan Sdri. Netty Herawati, S.Pd yang telah membantu penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, M.R. 1995. *Microorganism in Our World*. Mosby-Year Book Inc. USA
- Budiansyah, A. 2004. Pemanfaatan Probiotik dalam Meningkatkan Penampilan Produksi ternak Unggas. [Makalah Sains].IPB. Bogor.  
Internet:[http://72.14.203.104/search?q=chace:QOBmSmV5B1J:tumoutou.net/pp5702\\_9145/agus\\_budiansyah.pdf+mikroba+patogen+pada+ayam&gl=id&ct=clnk&cd=3](http://72.14.203.104/search?q=chace:QOBmSmV5B1J:tumoutou.net/pp5702_9145/agus_budiansyah.pdf+mikroba+patogen+pada+ayam&gl=id&ct=clnk&cd=3). Dikunjungi tanggal 29-01-06:09.23.
- Campbell, N. A, Reece, T. B, Mitchell, L. G. 2007. *Biologi*. Jilid I. Edisi Kelima. Erlangga. Jakarta. 438 hm
- Kurniati, Y S. 2006. Seleksi Mikroba Penghasil Enzim Hidrolase Ekstraseluler Dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung. Skripsi: FMIPA Unila. Bandar Lampung.
- Lehninger, A. L. 2005. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1*. Erlangga. Jakarta. 369 hlm
- Murray, Robert K, dkk. 2003. *Biokimia Harper* edisi 25. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 883 hlm.
- Nadeak, M. R. 2005. *Studi Isolat Actinomyces Penghasil Protease dari Sponge Di Perairan Lelanga Teluk Lampung*. Skripsi. Unila. Bandar Lampung
- Pelczar, J. Michael dan E.C.S Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Diterjemahkan oleh Ratna Siri H, dkk. Universitas Indonesia (UI-press). Yakarta
- Purwadaria, T. I-P Komplang, J. Darma, Supriyati, dan E. Sudjadmika.2003. *Isolasi dan penapisan mikroba untuk probiotik unggas dan pertumbuhannya pada berbagai sumber gula*. [http://www.sumutprov.go.id/download.php?filename=isolasi % 20 penapisanpdf & id=KA-01](http://www.sumutprov.go.id/download.php?filename=isolasi%20penapisanpdf&id=KA-01). situs ini diakses pada 2 Februari 2008
- Roosdiana, A, dkk. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Bacillus sp Penghasil Protease dari Kulit Ikan Kakap Merah (*Lutjanus sanguineus*). Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati (life Science) volume 15 No 2
- Rosenawati, D. 1996. Isolasi Khamir Penghidrolisis Pati Segar dari Bahan Ubi Kayu. Skripsi. Unila. Bandar Lampung.
- Sudaryani, T, dan Hari,S. 1993. *Pembibitan Ayam Ras*. Penebar Swadaya. Jakarta. 79 hlm
- Winarno, F.G. 1995. *Enzim Pangan*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 115 hlm
- Zahirotul, dkk. 2006. *Isolasi Lactobacillus, Bakteri Asam Laktat dari Feses dan Organ Saluran Pencernaan Ayam*. Dalam <http://209.85.175.132/search?q=cache:LnuNA7vYawJ:peternakan.litbang.deptan.go.id/publikasi/semnas/pro06112.pdf+ph+di+dalam+saluran+pencernaan+ayam&hl=id&ct=clnk&cd=2&gl=id&client=firefox-a> (17 Februari 09; 10.00)