

Suplementasi *Bacillus subtilis* terhadap Produktivitas Ayam Petelur Skala Komersial

Supplementation of *Bacillus subtilis* to Productivity of Laying Hens on a Commercial Scale

A Y Widodo^{1*}, Sumiati¹, R Tarigan¹

Corresponding email:

andiwidodo@apps.ipb.ac.id,

¹⁾ Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, IPB University, Jalan Agatis, kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat

²⁾ Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Jalan Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

ABSTRACT

This study, the impact of *Bacillus subtilis* probiotics on the productivity and faecal microbial variable of commercial laying hens in Indonesia was investigated. A total of 100,296 laying hens aged 18 weeks in a close house system were randomly allocated into two treatments with four replications per treatments. The applied treatments were T0 (control) and T1 (feed with probiotics). The experiment involved feeding laying hens with/without *Bacillus subtilis* strains 747 and 1781 (bacterial load of 1.5×10^8 cfu/kg feed, strain ratio of 1:1), collecting data on egg production, egg weight, feed consumption, and depletion from 20 to 26 weeks. Those variable were also observed from 18 to 19 weeks as pre-treatment data. Faecal samples were collected at 26 weeks for analysis of *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, and lactic acid bacteria levels. The results revealed that administering *Bacillus subtilis* strains 1781 and 747 significantly increased daily egg production by 7.9% and reduced daily depletion by 65% at the end of the treatment phase. However, probiotic supplementation did not affect daily feed intake, feed conversion ratio, egg weight, or the levels of *E. coli*, *C. perfringens*, and lactic acid bacteria in the hens' faeces. These findings demonstrate the potential and feasibility of *Bacillus subtilis* strains 1781 and 747 in improving the productivity and health of laying hens of commercial-scale production. This information is valuable for the poultry industry in optimizing production practices.

Key words: AGP, *Bacillus subtilis*, laying hen, probiotic, productivity

ABSTRAK

Pada studi ini, bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh probiotik *Bacillus subtilis* terhadap produktivitas dan mikrobial feses ayam petelur skala komersial di Indonesia. Sebanyak 100.296 ekor ayam petelur umur 18 minggu dialokasikan secara acak menjadi dua perlakuan masing masing empat ulangan dalam sistem kandang tertutup. Perlakuan yang diterapkan adalah T0 (kontrol) dan T1 (pakan dengan probiotik). Pakan yang diberikan untuk ayam petelur dengan/tanpa strain *Bacillus subtilis* 747 dan 1781 (jumlah bakteri $1,5 \times 10^8$ cfu kg⁻¹ pakan, rasio strain 1:1), Peubah data yang diukur yaitu produksi telur, bobot telur, konsumsi pakan, dan deplesi ayam petelur dari umur 18 hingga 19 minggu sebagai data pra-perlakuan, dilanjutkan dengan pengamatan pada umur 20 hingga 26 minggu sebagai data perlakuan. Sampel feses juga dikumpulkan pada umur 26 minggu untuk analisis *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, dan bakteri asam laktat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *Bacillus subtilis* strain 747 dan 1781 secara signifikan meningkatkan produksi telur harian sebesar 7,9% dan mengurangi deplesi harian sebesar 65% pada akhir fase perlakuan. Namun suplementasi probiotik tidak mempengaruhi konsumsi pakan harian, rasio konversi pakan, berat telur, maupun jumlah *E. coli*, *C. perfringens*, dan bakteri asam laktat pada feses ayam. Simpulan dari penelitian ini menunjukkan adanya potensi dan kelayakan *Bacillus subtilis* strain 1781 dan 747 dalam meningkatkan produktivitas dan kesehatan ayam petelur pada fase awal produksi skala komersial.

Kata kunci: AGP, ayam petelur, *Bacillus subtilis*, probiotik, produktivitas

PENDAHULUAN

Penghentian penggunaan *antibiotic growth promotor* (AGP) dan *colistin sulphate* pada unggas sesuai dengan Permentan No 14 tahun 2017 dan Peraturan Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan No 09160/PK.350/F/12/2019 tentu dapat berpengaruh sangat besar terhadap produktivitas dan kesehatan unggas secara keseluruhan, termasuk ayam petelur yang selama ini berkontribusi besar dalam pemenuhan kebutuhan protein asal hewan. Penggunaan probiotik di kalangan peternak ayam telah banyak diimplementasikan, terutama pada era bebas AGP dan antibiotik, karena terkait dengan efek peningkatan produktivitas dan kesehatan ayam (Hartono & Kurtini 2015). *Bacillus subtilis* adalah salah satu bakteri yang sangat sering digunakan sebagai probiotik yang ditambahkan dalam pakan ayam. Pemberian probiotik *Bacillus subtilis* dilaporkan dapat meningkatkan berat dan kualitas telur (Wardiana et al. 2021), senada dengan itu, Pratama et al. (2021) membuktikan bahwa pemberian probiotik *Bacillus subtilis* pada dosis 0,1-0,2 g kg⁻¹ pakan (jumlah mikroba sekitar 1-2 x 10⁸ cfu kg⁻¹ pakan) dapat meningkatkan efisiensi pakan pada ayam petelur.

Dewasa ini, terdapat beberapa strain *Bacillus subtilis* yang telah dikembangkan sebagai probiotik pada unggas (Jha et al. 2020). Kombinasi *Bacillus subtilis* strain 1781 dan 747 dilaporkan memiliki dampak positif pada pertumbuhan, status imun dan integritas saluran pencernaan, serta sistem imun broiler secara keseluruhan (Gadde et al. 2017; Park et al. 2020a; Park, et al. 2020b). Hal ini menjadikan probiotik tersebut memiliki potensi besar untuk diaplikasikan pada unggas, termasuk ayam ras petelur, sebagai salah satu alternatif pengganti AGP. Strain 1781 dan 747 telah dipastikan tidak memproduksi toksin penyebab diare dan toksin lain yang dapat mengganggu kesehatan unggas. Selain itu, strain tersebut telah dikonfirmasi tidak mengandung gen resistensi antibiotik yang dapat ditransfer. Lebih lanjut, strain tersebut memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri patogen enterik unggas seperti *E. coli* dan *C. perfringens* secara in vitro (Gadde et al. 2017; Rehberger et al. 2019).

Hingga saat ini, belum ada studi yang melaporkan pengaruh penggunaan probiotik *Bacillus Subtilis* strain 747 & 1781 terhadap produktivitas dan kesehatan pencernaan ayam petelur, terutama jika ditinjau dari parameter mikrobial seperti keberadaan *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, dan bakteri asam laktat. Selain itu, penelitian terkait penggunaan *Bacillus subtilis* dari berbagai strain sebagai probiotik dalam pakan ayam petelur umumnya dilakukan dalam skala kecil atau dengan kondisi kandang/lingkungan yang tidak terkontrol, yang tentunya belum menggambarkan kondisi peternakan komersial saat ini (Jha et al. 2020). Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh suplementasi pakan dengan *Bacillus subtilis* strain 747 & 1781 terhadap produktivitas dan parameter mikroba

feses ayam petelur fase awal produksi pada skala komersial. Fase awal produksi ayam petelur adalah titik kritis yang akan menentukan produktivitas ayam petelur secara keseluruhan. Hasil studi bertujuan memberi gambaran mengenai potensi penggunaan probiotik *Bacillus subtilis* pada skala komersial, yang diharapkan dapat meningkatkan performa dan kesehatan ayam petelur, terutama pada era bebas AGP dan bebas antibiotik.

METODE

Strain Probiotik dan Pencampuran dalam Pakan

Dua strain probiotik murni berupa *Bacillus subtilis* strain 1781 dan 747 yang diperoleh dari Arm & Hammer Co., Inc., Waukesha, USA digunakan dalam penelitian ini. Dosis suplemen probiotik dalam pakan mengacu pada rekomendasi produsen, yaitu sebanyak 7,5 x 10⁷ cfu *Bacillus subtilis* strain 747 kg⁻¹ pakan dan 7,5 x 10⁷ cfu *Bacillus subtilis* strain 1781 kg⁻¹ pakan. Untuk membuat sebanyak Pembuatannya satu ton pakan membutuhkan mula-mula sekitar 1,5 g probiotik dicampur terlebih dahulu dengan 4998,5 g premix vitamin dan mineral menggunakan *micro mixer* (*feed pre-mixer*). Selanjutnya, sebanyak 5 kg campuran premix dan probiotik tersebut dicampurkan ke dalam 995 kg pakan menggunakan *horizontal poultry feed mixer* sehingga didapatkan total satu ton pakan yang sudah disuplementasi probiotik.

Desain Penelitian

Sebanyak 100.296 ekor ayam petelur strain *Isa Brown* umur 18 minggu dialokasikan secara acak pada 2 perlakuan dengan 4 ulangan per perlakuan, sehingga terdapat 12.537 ekor ayam petelur per ulangan. Kedua perlakuan disusun sebagai rancangan acak lengkap berupa T0 (kontrol, tanpa perlakuan) dan T1 (perlakuan penambahan kombinasi *Bacillus subtilis* strain 1781 dan 747). Perlakuan penambahan probiotik dilakukan mulai minggu ke-20 hingga minggu ke-26. Semua ayam ditempatkan ke kandang baterai yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari bangunan kandang berukuran lebar 14 m x panjang 120 m x tinggi 4,5 m dengan sistem ventilasi *tunnel*. Penelitian ini menggunakan dua kandang identik untuk dua perlakuan berbeda. Setiap kandang terdiri atas 4 baris, dimana setiap baris (ulangan) terdiri atas 12.537 ekor ayam petelur yang dibagi ke dalam 1.590 kandang baterai berukuran lebar 64 cm x panjang 60 cm x tinggi 68 cm. Kepadatan ayam petelur diatur sebesar 480 cm² per ekor.

Kedua kelompok ayam ditempatkan di kandang baterai dengan siklus 16 jam terang dan 8 jam gelap (lampu menyala pada pukul 5.00 – 21.00 WIB, lampu padam pada pukul 21.00 – 05.00 WIB) pada rentang suhu efektif 21-23°C sesuai dengan kebutuhan suhu ayam petelur umur 18-26 minggu. Sistem ventilasi pada kandang penelitian ini diatur oleh kombinasi perangkat lunak dan perangkat keras iklim yang relevan dengan

kebutuhan unggas yaitu *DOL 539 climate & production controller* (SKOV, Denmark). Pengaturan iklim kandang didasarkan pada suhu, kelembaban, serta konsentrasi CO₂ dan NH₃. Sistem pemberian pakan juga diatur secara otomatis. Oleh karena itu, sistem ini dapat mengurangi pengaruh variabel lingkungan dan manajemen yang mungkin terjadi dalam penelitian ini. Sistem pembuangan kotoran dilakukan setiap dua hari sekali dengan *conveyor belt*. Selama periode tersebut, pakan dan air diberikan *ad libitum*. Pakan basal dalam percobaan diformulasikan mengikuti SNI 8290.5:2016 untuk ayam petelur fase produksi awal hingga puncak (BSN 2016). Bahan baku utama pakan adalah jagung dan bungkil kedelai.

Pengumpulan Sampel

Produksi telur (% jumlah telur per jumlah ayam per hari), berat telur (g), konsumsi pakan (g pakan per ayam per hari) dan deplesi (jumlah total ayam mati dan *culling* per total jumlah ayam) dihitung per hari mulai minggu ke-18 & 19 sebagai data pra-perlakuan dan dilanjutkan pada minggu ke-20 hingga minggu ke-26 sebagai data perlakuan. Sampel feses diambil pada akhir perlakuan, yaitu hari terakhir minggu ke 26. Jumlah sampel feses yang diambil dari setiap perlakuan adalah sebanyak 5-10 g dengan empat ulangan. Sampel feses segar diambil pada *conveyor belt*. Sampel feses dimasukan ke dalam plastik lalu sampel dikirim ke laboratorium mikrobiologi Pusat Studi Satwa Primata pada hari yang sama dengan kondisi suhu *chilling* ($\pm 4^{\circ}\text{C}$).

Isolasi dan Perhitungan Level *E. coli*, *C. perfringens*, dan Bakteri Asam Laktat

Preparasi sampel feses dan penumbuhan bakteri target dilakukan tidak lebih dari 36 jam setelah pengambilan sampel feses. Preparasi sampel dilakukan dengan mengambil sampel feses sebanyak 1 g. Sampel feses tersebut dimasukan ke dalam plastik dan ditambahkan larutan pepton sebanyak 99 ml untuk menghasilkan pengenceran sebesar 10⁻¹, selanjutnya diencerkan kembali (10⁻² hingga 10⁻⁶). Bakteri *E. coli* ditumbuhkan dalam media selektif *Brilliance™* (Oxoid Ltd, UK) (Lee et al. 2021), bakteri asam laktat ditumbuhkan dalam media *MRS agar* (Oxoid Ltd, UK) (Yanti et al. 2020), dan bakteri *C. perfringens* ditumbuhkan dalam media *Tryptose sulfite*

cycloserine (TSC) agar (Oxoid Ltd, UK) (Kotsanas et al. 2010). Media agar tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam kemudian dihitung jumlah koloni yang terbentuk.

Analisis Data

Pengaruh perbedaan perlakuan pemberian pakan (dengan dan tanpa pemberian probiotik serta perbedaan umur ayam) terhadap peubah produktivitas ayam petelur secara keseluruhan dianalisis menggunakan analisis sidik ragam satu jalur (*one way analysis of variance/ANOVA*). Selanjutnya, *Tukey's posthoc test* dilakukan untuk melihat perbedaan 14 perlakuan (kombinasi umur dan pemberian probiotik, 7 kelompok umur x 2 perlakuan berbeda) terhadap peubah produktivitas ayam petelur. Hal tersebut menjadi penting untuk mendapatkan gambaran tren produktivitas ayam petelur dengan atau tanpa penambahan probiotik pada umur ayam berbeda. Perbedaan level bakteri pada feses ayam berumur 26 minggu pada dua perlakuan berbeda (T0 dan T1) dianalisis menggunakan *student's t-test*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi Telur, Berat Telur, dan Konsumsi Pakan

Tabel 1 menunjukkan data produksi telur, berat telur, dan konsumsi pakan. Minggu ke-18 dan 19 merupakan minggu penyesuaian untuk memastikan ayam dari kelompok T0 dan T1 dapat bertelur dengan jumlah produksi yang tidak berbeda nyata. Perlakuan pemberian probiotik *Bacillus subtilis* strain 1781 dan 747 dimulai pada umur ayam minggu ke-20. Mulai minggu ke-23, perbedaan perlakuan memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) pada produksi telur harian dengan produksi telur harian perlakuan ayam yang diberikan probiotik (T1) pada minggu ke-23, 24, 25 dan 26 berturut-turut adalah 57,81%, 74,58%, 84,89% dan 90,77% sedangkan produksi telur harian pada kelompok kontrol (T0) pada minggu ke 23, 24, 25 dan 26 berturut-turut adalah 56,36%, 71,31%, 80,56% dan 84,11%.

Tabel 1 Produksi telur harian, berat telur dan konsumsi pakan ayam petelur pada umur ayam berbeda.

Minggu	Produksi telur harian (%)		Berat telur (g)		Konsumsi pakan (g)	
	T0	T1	T0	T1	T0	T1
18	1,0 \pm 0,08	1,1 \pm 0,06	44,3 \pm 0,95 ^b	41,6 \pm 0,75 ^a	79,7 \pm 4,69	81,9 \pm 3,31
19	3,2 \pm 0,24	3,7 \pm 0,22	44,5 \pm 0,77	43,5 \pm 0,14	86,2 \pm 5,46	86,2 \pm 1,90
20	9,1 \pm 0,27	9,6 \pm 0,09	47,5 \pm 1,48 ^d	45,2 \pm 0,53 ^c	81,2 \pm 1,25	77,1 \pm 1,34
21	19,7 \pm 0,44	19,8 \pm 0,13	49,3 \pm 0,59	48,4 \pm 0,47	85,5 \pm 1,49	83,1 \pm 3,50
22	37,2 \pm 0,63	37,0 \pm 0,40	51,7 \pm 0,47	51,0 \pm 0,32	88,8 \pm 1,35	86,9 \pm 1,53
23	56,4 \pm 0,80 ^a	57,8 \pm 0,37 ^b	53,6 \pm 0,37	52,8 \pm 0,18	90,6 \pm 1,40	90,0 \pm 1,06
24	71,3 \pm 0,95 ^c	74,6 \pm 0,28 ^d	55,7 \pm 0,38	54,8 \pm 0,92	93,3 \pm 1,59	96,4 \pm 1,18
25	80,6 \pm 1,06 ^e	84,9 \pm 0,65 ^f	57,1 \pm 0,16	55,9 \pm 0,28	99,6 \pm 0,65	104,0 \pm 1,33
26	84,1 \pm 0,26 ^e	90,8 \pm 0,46 ^h	58,4 \pm 0,10	57,8 \pm 0,42	100,8 \pm 1,41	105,1 \pm 0,67

Keterangan: T0= kelompok kontrol; T1= penambahan *Bacillus subtilis* strain 1781+747; Data dinyatakan dalam rata-rata \pm standar deviasi (n=4). Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji Tukey ($p < 0,05$).

Hasil studi ini menunjukkan bahwa pemberian probiotik dapat meningkatkan produksi telur harian. Hal ini sesuai dengan temuan Zou *et al.* (2021) dan Sucipto *et al.* (2020) yang membuktikan bahwa pemberian probiotik *Bacillus subtilis* dapat meningkatkan produksi telur harian. Berdasarkan analisis ragam dan Tukey's *posthoc test*, perbedaan signifikan produksi telur harian dari perlakuan T0 dan T1 tidak teramati pada minggu ke-20 hingga minggu ke-22. Kondisi ini mungkin terjadi karena keterbatasan kemampuan *Bacillus subtilis* dalam berkolonisasi di dalam saluran cerna mengingat *Bacillus subtilis* bukan bakteri normal pada saluran cerna dan umumnya diperoleh dari tanah (Elshagabee *et al.* 2017). Lebih lanjut, bakteri komensal saluran cerna juga dapat berkontribusi dalam menghambat kolonisasi *Bacillus* pada saluran cerna (Berthold-Pluta *et al.* 2015). Proses kolonisasi *Bacillus subtilis* yang memerlukan waktu ini berdampak pada rendahnya jumlah metabolit yang berkontribusi dalam memberikan dampak positif pada kesehatan saluran cerna. Seiring dengan terus menerus diberikannya probiotik *Bacillus subtilis*, maka jumlah probiotik yang berkoloni pada saluran cerna semakin banyak dan pada akhirnya meningkatkan produksi metabolit yang bermanfaat bagi kesehatan saluran cerna. Beberapa jenis metabolit yang dapat dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* yang bermanfaat bagi kesehatan saluran cerna melalui mekanisme antimikroba, antara lain: lipopeptida yang disintesis secara non-ribosomal, asam lemak, poliketida dan siderofor (non-peptida) (Luo *et al.* 2015). Aktivitas antimikroba ini memberi dampak sebagai pemacu pertumbuhan ayam (*growth promotor*) dengan cara menekan pertumbuhan mikroba patogen (Wu *et al.* 2015). Adapun jenis metabolit antimikroba yang diduga dapat dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* strain 1781 dan 747 diantaranya adalah *gramicidin*, *plispastatin*, *iturin A*, dan *lantibiotic 1* (Rehberger *et al.* 2019).

Peningkatan berat telur seiring dengan bertambahnya umur ayam. Hal ini berhubungan dengan konsumsi pakan yang meningkat sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 1. Secara umum, berat telur dan nilai konsumsi pakan harian tidak berbeda nyata antar perlakuan T0 dan T1. Hasil ini sejalan dengan laporan Ribeiro *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa pemberian *Bacillus subtilis* tidak memberikan pengaruh nyata pada berat telur harian dan konsumsi pakan harian.

Rasio Konversi Pakan dan Deplesi

Tabel 2 menunjukkan nilai rasio konversi pakan dan deplesi pada ayam petelur dengan umur berbeda dan perlakuan berbeda (T0 dan T1). Berdasarkan studi ini, nilai rasio konversi pakan pada dua perlakuan (T0 dan T1) tidak berbeda nyata satu sama lain. Hasil ini juga senada dengan temuan Ribeiro *et al.* (2014) yang melaporkan bahwa pemberian *Bacillus subtilis* tidak memberi dampak signifikan pada rasio konversi pakan. Meskipun demikian, data numerik pada studi ini menunjukkan bahwa rata-rata konversi pakan harian pada perlakuan penambahan probiotik sedikit lebih baik daripada kontrol. Sebagai contoh, nilai rasio konversi pakan ayam berumur 26 minggu pada perlakuan T0 dan T1 adalah masing-masing berkisar 2,01-2,10 dan 1,98-2,03.

Deplesi ayam petelur pada studi ini menjadi salah satu peubah kesehatan yang diukur, hal ini dapat menggambarkan status kesehatan ayam petelur secara umum. Deplesi yang dimaksud dapat berupa kematian atau *culling*. *Culling* (afkir) adalah ayam yang mengalami pertumbuhan tidak normal yang ditandai dengan kerdil, sakit, atau tidak dapat bertelur (tidak matang secara seksual). Rendahnya deplesi mengindikasikan kesehatan ayam petelur yang lebih baik. Pemberian probiotik *Bacillus subtilis* berdampak nyata pada penurunan deplesi ayam petelur pada minggu ke-24, 25 dan 26 (Tabel 2).

Tabel 2 Produksi telur harian, berat telur dan konsumsi pakan ayam petelur pada umur ayam berbeda.

Minggu	Rasio konversi pakan (g g ⁻¹)		Deplesi (%)	
	T0	T1	T0	T1
18	184,2±4,53	188,4±18,8	0,06±0,03	0,04±0,01
19	60,9±8,28	54,3±3,95	0,08±0,02	0,04±0,01
20	18,9±0,71	17,7±0,49	0,08±0,03	0,06±0,02
21	8,8±0,43	8,6±0,44	0,12±0,05	0,09±0,05
22	4,6±0,10	4,6±0,12	0,16±0,05	0,14±0,05
23	3,0±0,08	2,9±0,05	0,26±0,08	0,18±0,06
24	2,4±0,05	2,4±0,05	0,39±0,06 ^b	0,20±0,08 ^a
25	2,2±0,04	2,2±0,04	0,30±0,09 ^d	0,14±0,08 ^c
26	2,1±0,04	2,0±0,02	0,41±0,12 ^f	0,14±0,05 ^e

Keterangan: T0= kelompok kontrol; T1= penambahan *Bacillus subtilis* strain 1781+747; Data dinyatakan dalam rata-rata±standar deviasi (n=4). Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji Tukey (p<0,05).

Tabel 3 Jumlah bakteri patogen (*E. coli* dan *C. perfringens*) dan bakteri non-patogen (bakteri asam laktat/BAL) pada feses ayam petelur

Jumlah bakteri	T0	T1
<i>Escherichia coli</i> (log cfu g ⁻¹)	8,0x10 ⁷ ±0,65	4,4x10 ⁷ ±0,20
<i>Clostridium perfringens</i> (log cfu g ⁻¹)	5,7x10 ⁴ ±0,86 ^b	3,3x10 ⁵ ±0,32
BAL (log cfu g ⁻¹)	2,2x10 ⁸ ±0,09	2,1x10 ⁸ ±0,10

Keterangan: T0= kelompok control; T1= penambahan *Bacillus subtilis* strain 1781+747; Data dinyatakan dalam rata-rata±standar deviasi (n=4). Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji t-student (p<0,05)

Pemeliharaan ayam petelur di kandang komersial dengan kepadatan tinggi dapat menyebabkan stres, memicu munculnya perilaku yang merugikan seperti mematok secara agresif, mematok bulu secara parah, dan kanibalisme, hal ini merupakan masalah kritis yang dihadapi peternakan ayam petelur. Kondisi stres tersebut dapat berimplikasi pada tingginya tingkat deplesi ayam petelur. Jiang et al. (2022) dalam kajian sistematisnya merangkum bahwa perlakuan pemberian probiotik *Bacillus subtilis* dapat berkontribusi positif dalam mengurangi perilaku merugikan pada ayam petelur melalui regulasi fungsi mikrobiota-saluran cerna-otak. Suplementasi *Bacillus subtilis* dilaporkan dapat meregulasi komposisi mikrobiota saluran pencernaan yang dapat berimplikasi pada integritas struktur dan fungsi saluran pencernaan. Kondisi saluran pencernaan yang sehat dapat mencegah potensi terjadinya neuroinflamasi yang diduga berkaitan dengan munculnya perilaku merugikan pada hewan ternak. Selain itu, mikrobiota saluran pencernaan juga diketahui terlibat dalam metabolisme triptofan yang menjadi penghubung langsung antara saluran pencernaan dengan otak (Cao et al. 2021). Triptofan dan metabolit turunannya dikaitkan dengan pengendalian perilaku agresif, stres, dan memodulasi fungsi kekebalan pada manusia dan beberapa spesies hewan ternak, termasuk ayam (Jiang et al. 2022).

Mikroba Feses Ayam Petelur

Parameter kesehatan ayam petelur selain deplesi adalah parameter mikrobial, contohnya keberadaan bakteri asam laktat dan menurunnya jumlah patogen seperti *E. coli* dan *C. perfringens*. Level bakteri feses yang diamati dapat dilihat pada Tabel 3.

Level *E. coli* yang diperoleh dari sampel feses kedua kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan nyata. Hasil ini seiring dengan laporan Wang et al. (2016) yang menyatakan bahwa meski pemberian *Bacillus subtilis* memberi dampak positif pada produktivitas ayam, akan tetapi level *E. coli* dan bakteri asam laktat pada sampel usus halus yang teramati tidak berbeda nyata dengan kontrol. Hasil penelitian La Ragione et al. (2001) menunjukkan kecenderungan yang berbeda

perlakuan pemberian *Bacillus subtilis* melalui inkubasi intragastrik efektif menurunkan level *E. coli* patogenik pada sekum ayam hingga 3 log. Studi tersebut menggunakan pendekatan ujiantang, yaitu *E. coli* patogenik diberikan secara oral pada populasi tertentu. Perbedaan jenis sampel biologis, metode analisis, dan cara pemberian probiotik yang digunakan dapat memengaruhi perbedaan hasil analisis jumlah mikroba. Sejalan dengan studi Wang et al. (2016), meskipun spora *Bacillus subtilis* pada studi ini tidak memengaruhi jumlah mikroba yang diamati, namun probiotik tersebut diduga terlibat dalam meregulasi pertumbuhan dan populasi mikroba dalam saluran cerna yang dapat berimplikasi pada peningkatan persentase produksi telur harian. Korelasi antara perlakuan probiotik *Bacillus subtilis* dan pertumbuhan *C. perfringens* lebih mudah terlihat apabila parameter yang diamati terkait dengan kondisi nekrotik enteritis, terutama pada studi dengan skema uji tantangan (Sandvang et al. 2021).

SIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian *Bacillus subtilis* strain 1781 dan 747 pada ayam petelur fase awal produksi skala komersial dapat meningkatkan produksi telur harian dan menurunkan deplesi harian masing-masing 7,9% dan 65% pada akhir fase perlakuan penambahan probiotik. Perbedaan perlakuan tidak berpengaruh terhadap nilai konsumsi pakan harian, rasio konversi pakan, berat telur, level bakteri *E. coli*, *C. perfringens*, dan bakteri asam laktat. Berdasarkan hasil penelitian ini, maka perlakuan suplementasi *Bacillus subtilis* dalam pakan berpotensi untuk diaplikasikan secara komersial dalam meningkatkan produksi telur harian atau mempercepat puncak produksi dan meningkatkan kesehatan ayam petelur, terutama pada era bebas AGP dan menuju era bebas antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Berthold-Pluta A, Pluta A & Garbowska M. 2015. The effect of selected factors on the survival of *Bacillus cereus* in the human gastrointestinal tract. *Microbial Pathogenesis*. 82:7-14. doi:10.1016/j.micpath.2015.03.015.
- Cao C, Chowdhury VS, Cline MA & Gilbert ER. 2021. The microbiota-gut-brain axis during heat stress in chickens: a review. *Frontier in Physiology*. 12. doi:10.3389/fphys.2021.752265.
- Elshaghabee FMF, Rokana N, Gulhane RD, Sharma C & Panwar H. 2017. *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. *Frontier in Microbiology*. 8 :1-15.doi:10.3389/fmicb.2017.01490.
- Gadde U, Oh ST, Lee YS, Davis E, Zimmerman N, Rehberger T & Lillehoj HS. 2017. The effects of direct-fed microbial supplementation, as an alternative to antibiotics, on growth performance, intestinal immune status, and epithelial barrier gene expression in broiler chickens. *Probiotics and Antimicrobial. Proteins*. 9(4):397-405.doi:10.1007/s12602-017-9275-9.

- Hartono M & Kurtini T. 2015. Pengaruh pemberian probiotik terhadap performa ayam petelur (*the effect of probiotic supplements on layer performance*). *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 15(3):214–219.
- Jha R, Das R, Oak S & Mishra P. 2020. Probiotics (direct-fed microbials) in poultry nutrition and their effects on nutrient utilization, growth and laying performance, and gut health: A systematic review. *Animals*. 10(10):1–19. doi:10.3390/ani10101863.
- Jiang S, Hu JY & Cheng HW. 2022. The Impact of probiotic *Bacillus subtilis* on injurious behavior in laying hens. *Animals*. 12(7). doi:10.3390/ani12070870.
- Kotsanas D, Carson JA, Awad MM, Lyras D, Rood JI, Jenkin GA, Stuart RL & Korman TM. 2010. Novel use of tryptose sulfite cycloserine egg yolk agar for isolation of *Clostridium perfringens* during an outbreak of necrotizing enterocolitis in a neonatal unit. *Journal of Clinical Microbiology*. 48(11):4263–4265. doi:10.1128/JCM.01724-10.
- Lee ZZ, Abraham R, O'Dea M, Harb A, Hunt K, Lee T, Abraham S & Jordan D. 2021. Validation of selective agars for detection and quantification of *Escherichia coli* strains resistant to critically important antimicrobials. *Microbiology. Spectrum* 9(3):1–12. doi:10.1128/spectrum.00664-21.
- Luo C, Liu X, Zhou X, Guo J, Truong J, Wang X, Zhou H, Li X & Chen Z. 2015. Unusual biosynthesis and structure of locillomycins from *Bacillus subtilis* 916. *Applied. Environmental Microbiology*. 81(19):6601–6609. doi:10.1128/AEM.01639-15.
- Park I, Lee Y, Goo D, Zimmerman NP, Smith AH, Rehberger T & Lillehoj HS. 2020. The effects of dietary *Bacillus subtilis* supplementation, as an alternative to antibiotics, on growth performance, intestinal immunity, and epithelial barrier integrity in broiler chickens infected with *Eimeria maxima*. *Poultry Science*. 99(2):725–733. doi:10.1016/j.psj.2019.12.002.
- Park I, Zimmerman NP, Smith AH, Rehberger TG, Lillehoj EP & Lillehoj HS. 2020. Dietary supplementation with *Bacillus subtilis* direct-fed microbials alters chicken intestinal metabolite levels. *Frontiers in Veterinary Science*. 7:1–9. doi:10.3389/fvets.2020.00123.
- Pratama HS, Lokapirnasari WP, Soeharsono S, Al-Arif MA, Harijani N & Hidanah S. 2021. Effect of probiotics *Bacillus subtilis* on feed efficiency and egg mass of laying hens. *Jurnal Medica Veterinaria*. 4(1):37. doi:10.20473/jmv.vol4.iss1.2021.37-41.
- La Ragione RM, Casula G, Cutting SM & Woodward MJ. 2001. *Bacillus subtilis* spores competitively exclude *Escherichia coli* O78:K80 in poultry. *Veterinary Microbiology*. 79 (2):133–142. doi:10.1016/S0378-1135(00)00350-3.
- Rehberger T, Hutchison E, Smith AG & Rehberger J. 2019. *Methods of Microbial Treatment of Poultry*. US Patent No: 10,201,574 B1.
- Ribeiro V, Albino LFT, Rostagno HS, Barreto SLT, Hannas MI, Harrington D, de Araujo FA, Ferreira HC & Ferreira MA. 2014. Effects of the dietary supplementation of *Bacillus subtilis* levels on performance, egg quality and excreta moisture of layers. *Animal Feed Science and Technology*. 195: 142–146. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.06.001.
- Sandvang D, Skjoet-Rasmussen L, Cantor MD, Mathis GF, Lumpkins BS & Blanch A. 2021. Effects of feed supplementation with 3 different probiotic *Bacillus* strains and their combination on the performance of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. *Poultry Science*. 100(4):100982. doi: 10.1016/j.psj.2021.01.005.
- Sucipto A, Lisnanti EF & Rudiono D. 2020. Pengaruh pemberian *Bacillus subtilis* dan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap produksi ayam layer umur 36 minggu. *Rekasatwa Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan*. 2(2):97–105.
- Wang X, Farnell YZ, Peebles ED, Kiess AS, Wamsley KGS & Zhai W. 2016. Effects of prebiotics, probiotics, and their combination on growth performance, small intestine morphology, and resident *Lactobacillus* of male broilers. *Poultry Science*. 95(6):1332–1340. doi:10.3382/ps/pew030.
- Wardiana NI, Lokapirnasari WP, Harijani N, Al-Arif MA & Ardianto A. 2021. *Bacillus subtilis* probiotics in chicken feed improve egg quality with differences in shelf life. *Jurnal Medik Veteriner*. 4(1):8. doi:10.20473/jmv.vol4.iss1.2021.8-13.
- Wu L, Wu HJ, Qiao J, Gao X & Borriss R. 2015. Novel routes for improving biocontrol activity of *Bacillus* based bioinoculants. *Frontiers Microbiology*. 6:1–13. doi:10.3389/fmicb.2015.01395.
- Yanti AH, Setyawati TR & Kurniatuhadi R. 2020. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from fecal pellets, coelomic fluid, and gastrointestinal tract of nypa worm (*Namalycastis rhodochorde*) from West Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*. 21(10):4726–4731. doi:10.13057/biodiv/d211036.
- Zou X, Jiang S, Zhang M, Hu H, Wu X, Liu J, Jin M & Cheng H. 2021. Effects of *Bacillus subtilis* on production performance, bone physiological property and hematology indexes in laying hens. *Animals*. 11(7). doi:10.3390/ani11072041.