

UJI VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT DARI USUS YANG DIPREPARASI DALAM RANSUM UNGGAS

The Viability Test of Lactic Acid Bacteria from Intestine in Preparation on Poultry Ration

Rudy Sutrisna^a, C. N. Ekowati^b, Salman Farisi^b, dan Hendra Verry Setyawan^b

^aDepartment of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, Lampung University
Soemantri Brojonegoro No. 1, Gedong Meneng, Rajabasa, Bandar Lampung, Lampung Province

^bDepartment of Animal Husbandry, State Polytechnic of Lampung
Soekarno Hatta No. 10, Bandar Lampung, Lampung Province
email: rudysutrisna65@yahoo.co.id

ABSTRACT

The aim of this study is to know the viability of Lactic Acid Bacteria isolates on ration and combination of ration with molasses. This study used a mixture of lactic acid bacteria isolates from the duck intestine (B4, B7, B8). The third bacterial isolates were inoculated on two different treatment media, on ration media (R1), and combination of ration + molasses (R2). The study was arranged by randomized block design (RAK) 6x2 factorial treatment pattern. Factor A is the incubation time of 0 hours, 2 hours, 4 hours, 6 hours, 8 hours and 10 hours. Factor B is two types of growing media of lactic acid bacteria, is ransum media, and combination of ransum + molasses. Each treatment was repeated 3 times. This research uses pour plate method with the calculation of the colony using colony counter. Data analyzed descriptively. The results showed that the addition of 1.6% molasses (R2) maintains the number of LAB population at 4th hour with the cell number $7,36 \times 10^5$ CFU / g. While on the ration medium (R1) can maintain the amount of LAB at 6th hour with the cell number of $6,20 \times 10^5$ CFU / g. LAB population viability on feed medium with addition of molases 1.6% (R2) has increased on storage time at 4th hour with cell number $7,36 \times 10^5$ CFU / g, while on feed medium (R1) decreased cell count $6,08 \times 10^5$ CFU / g.

Keywords: Viability, Lactic Acid Bacteria, Ransum, Molase.

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat dapat bertahan hidup pada medium yang sesuai atau medium yang memiliki komposisi nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya. Menurut Pelczar dan Chan (2005) bakteri akan mampu mempertahankan diri dengan baik di dalam lingkungan selama kondisinya menguntungkan. Salah satu lingkungan yang berperan adalah media preparasi ransum.

Komposisi ransum menurut Saputro (2016) terdiri dari campuran bahan-bahan pakan yang meliputi dedak, tepung jagung, ampas tahu, tepung ikan, mineral, molases, minyak sawit, lisin, metionin lalu dibuat dalam bentuk *pellet* dan diberikan pada itik. Menurut Hidayat dan Suhartini (2006) molases dapat digunakan sebagai sumber karbon karena mengandung sukrosa 30-40 %, glukosa 4-9 %, dan fruktosa 5-12 %. Hermawati (2013) menunjukkan bahwa molases 2% dan molases 1,5% merupakan konsentrasi paling optimal dalam meningkatkan daya simpan terhadap viabilitas bakteri asam laktat. Hasil penelitian Supriyanto *et al.*, (2012), konsentrasi molases 2% adalah konsentrasi terbaik untuk pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*.

Preparasi ransum dengan perbandingan 1 : 1 adalah perbandingan ransum dengan probiotik dengan kepadatan 10^8 CFU/ml (Irianingrum, 2009), sehingga kandungan tepung ikan, molases dan bahan organik lain dapat mendukung viabilitas bakteri asam laktat dalam preparasi ransum itik.

Penelitian Irianingrum (2009) dalam pembuatan silase dedak padi menggunakan starter Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam mempertahankan kualitas dan menurunkan kandungan asam fitat dari dedak padi yaitu 6,70% hingga mencapai 2,07% serta meningkatkan pencernaan bahan kering dan organik dalam keadaan anaerob selama 12 minggu.

MATERI DAN METODE

Materi

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain laminar *air flow cabinet*, tabung reaksi, *autoclave*, cawan petri, erlenmeyer, *hot plate*, *micropipet* dan pipet tip, kapas, kain kasa, *colony counter*, oven, pipet volumetri dan pump. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini anatara lain meliputi isolat bakteri usus itik (B4, B7, dan B8) yang diperoleh dari koleksi (Sutrisna, 2013),

media deMan Rogosa and Sharpe (MRS) Broth, media deMan Rogosa and Sharpe (MRS) Agar, NaCl steril, ransum dan ransum bermolases.

Metode

Penelitian disusun dengan percobaan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola perlakuan faktorial 6x2. Faktor A adalah lama waktu inkubasi 0 jam, 2 jam, 4 jam, 6 jam, 8 jam dan 10 jam. Faktor B adalah dua jenis media tumbuh BAL, yaitu media ransum, dan kombinasi media ransum + molases. Masing-masing perlakuan diulangi sebanyak 3 kali.

Tahapan dalam penelitian ini yaitu

1. Peremajaan bakteri isolat B4, B7, dan B8 yang di campur menjadi satu dari usus itik diremajakan pada tabung reaksi yang berisi medium MRS Broth kemudian diinkubasi selama 48 jam di dalam inkubator pada suhu 37°C.
2. Pembuatan inokulum isolat yang telah diinkubasi dari peremajaan diambil sebanyak 1 ml ke dalam 10 ml MRS Broth steril kemudian diinkubasi selama 48 jam dalam *incubator*.
3. Pembuatan ransum dengan probiotik, suspensi bakteri uji diinokulasikan secara merata dengan perbandingan 50 ml suspensi (Standart *Mac Farland* 10⁸ CFU/ml) untuk setiap 50 gram media pakan (Irianingrum, 2009) yaitu ransum (R1) dan kombinasi ransum + molases 1,6 % (R2). Campuran antara suspensi bakteri dengan media pakan dihomogenkan dan diinkubasi pada 0 jam, 2 jam, 4 jam, 6 jam, 8 jam dan 10 jam dalam cawan petri pada suhu ruang.
4. Perhitungan sel bakteri dilakukan secara tidak langsung dengan metode *pour plate*. Masing-masing sampel perlakuan diambil sebanyak 1 gram, lalu diencerkan dalam larutan garam fisiologis sebanyak 10 ml sebagai pengenceran 10⁻¹ dan seterusnya sampai pengenceran 10⁻⁹. Diambil sebanyak 1 ml masing-masing dari 3 pengenceran tertinggi dituang kedalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan medium MRS Agar sebanyak 15 ml. Cawan petri digoyangkan supaya suspensi dan media tercampur merata (*Pour Plate Method*). Setelah media memadat, diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 48 ± 2 jam. Setelah diinkubasi dihitung jumlah koloni dengan menggunakan *colony counter*. Hasil perhitungan jumlah koloni kemudian dikonversikan ke dalam sel/ml.

Jumlah koloni BAL yang tumbuh kemudian dimasukkan kedalam rumus Angka Lempeng Total (ALT) sebagai berikut:

$$N = \frac{\Sigma C}{(n1 \times 1) + (n2 \times 0,1)} \times d \text{ (Kristiyanti, 2015).}$$

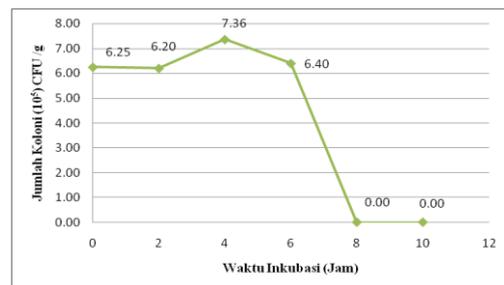
Keterangan:

- N = Jumlah koloni / gram
- ΣC = Total koloni yang dapat dihitung
- n1 = Jumlah cawan petri pada pengenceran pertama yang dihitung
- n2 = Jumlah cawan petri pada pengenceran kedua yang dihitung
- d = Pengenceran pertama yang dihitung

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Isolat BAL pada Media Perlakuan

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah angka lempeng total menunjukkan bahwa penambahan molases pada media perlakuan memberikan pengaruh terhadap daya hidup BAL. Gambar 1 menunjukkan bahwa dengan penambahan molase 1,6 % pada media ransum bermolases (R2) dapat bertahan sampai waktu penyimpanan 4 jam dengan jumlah populasi BAL tertinggi 7,36 x 10⁵ CFU/g, kemudian menurun pada jam ke 6 menjadi 6,40 x 10⁵ dan terus menurun pada pengamatan jam ke 8. Gambar 2 menunjukkan daya tahan BAL pada media perlakuan ransum tanpa molase (R1) bertahan sampai waktu penyimpanan 6 jam yaitu sebesar 6,20 x 10⁵ CFU/g dan terus menurun pada pengamatan jam ke 8.

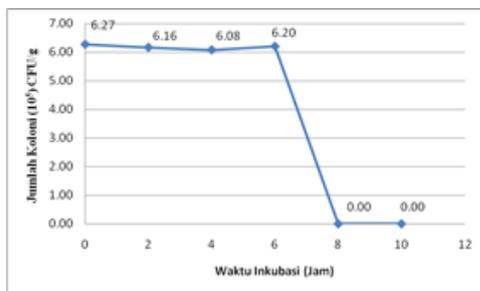


Gambar 1. Grafik pertumbuhan pada media ransum bermolases

Berdasarkan fase pertumbuhan BAL pada Gambar 1 yaitu fase *lag* terjadi pada jam ke-0 sampai dengan jam ke-2, sedangkan fase *eksponen* terjadi pada jam ke-2 sampai dengan jam ke-4, dan fase kematian terjadi pada jam ke-6 sampai dengan jam ke-10, sedangkan fase pertumbuhan BAL pada Gambar 2 yaitu fase *eksponen* terjadi pada jam ke-0, pada jam ke-2 sampai dengan jam ke-4 populasi bakteri mengalami fase penurunan, pada jam ke-6 mengalami peningkatan kembali, dan fase kematian terjadi pada jam ke-8 sampai jam ke-10.

Hasil penelitian, menunjukkan bahwa pada media perlakuan ransum dengan penambahan molase 1,6 % (R2) meningkatkan secara signifikan

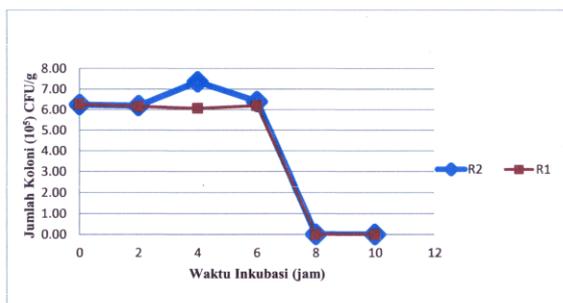
terhadap pertumbuhan BAL dibandingkan dengan media ransum tanpa molase (R1). Berdasarkan hasil penelitian ini, maka daya tahan isolat BAL terhadap lama penyimpanan hanya sampai 4 jam pada (R2). Ditunjukkan pada Gambar 1 yaitu fase lag ditunjukkan pada jam ke-0 (awal inkubasi) campuran isolat BAL pada media ransum ber molase 1,6 % (R2) jumlah selnya $6,25 \times 10^5$ CFU/g. Jumlah sel ini tetap bertahan (viable) hingga jam ke-2 yaitu $6,20 \times 10^5$ CFU/g. Selanjutnya fase eksponen ditunjukkan pada jam ke-2 dengan jumlah sel $6,20 \times 10^5$ CFU/g. Jumlah sel ini tetap bertahan sampai dengan jam ke-4 yaitu $7,36 \times 10^5$ CFU/g, dan mengalami penurunan yang ditunjukkan pada jam ke-4 dengan jumlah selnya $7,36 \times 10^5$ CFU/g sampai jam ke-6 yaitu dengan jumlah sel $6,40 \times 10^5$ CFU/g. Pada jam ke-8 dan ke-10 mengalami fase kematian ditandai dengan tidak adanya populasi bakteri yang tumbuh.



Gambar 2. Grafik pertumbuhan pada media

Viabilitas Isolat BAL Dari Usus Itik Pada Media Perlakuan

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah koloni menggunakan rumus Kristiyanti, (2015) menunjukkan bahwa molase bakteri asam laktat menghasilkan viabilitas tertinggi yaitu pada media perlakuan ransum dengan penambahan molase 1,6% (R2) dibandingkan dengan media perlakuan ransum tanpa molase (R1). Perbedaan signifikan ditunjukkan pada Gambar 3 yaitu terjadi peningkatan viabilitas populasi bakteri pada media ransum bermolasses 1,6% (R2) yaitu pada jam ke-4 dengan jumlah $7,36 \times 10^5$ CFU/g, sedangkan pada media ransum tanpa molase (R1) viabilitas populasi bakteri sebesar $6,08 \times 10^5$ CFU/g.



Gambar 3. Viabilitas isolat BAL sebagai kandidat probiotik dalam ransum

Berdasarkan persentase viabilitas pada media ransum dengan penambahan molase 1,6 % (R2) mengalami peningkatan viabilitas tertinggi yaitu terjadi pada jam ke-4 dengan jumlah sel $7,36 \times 10^5$ CFU/g. Pada waktu penyimpanan ke-0 jam sampai ke-2 jam persentase viabilitas BAL tidak menunjukkan perbedaan spesifik antara kedua media perlakuan karena BAL mengalami fase lag (fase penyesuaian diri). Pada fase lag campuran isolate BAL pada kedua media perlakuan mengalami adaptasi dengan perubahan lingkungan tempat hidupnya. Pada jam ke-2 dan jam ke-4 viabilitas BAL pada media ransum bermolasses (R2) lebih tinggi karena molasses mengandung gula dalam bentuk yang lebih sederhana dibandingkan dengan media ransum tanpa molasses (R1), sehingga mudah digunakan oleh bakteri untuk memacu proses pertumbuhan dan molasses. Pada jam ke-6 viabilitas BAL mengalami penurunan, karena pada waktu ini nutrisi yang telah didapatkan pada fase penyesuaian diri telah habis. Pada jam ke-8 dan ke-10 viabilitas BAL mengalami fase kematian ditandai dengan tidak adanya populasi bakteri yang tumbuh.

Menurut Priyono (2009) molasses merupakan sumber molasse yang esensial dengan kandungan gula. Dengan demikian, molasses banyak dimanfaatkan sebagai bahan tambahan pakan ternak dengan kandungan nutrisi yang cukup baik. Molasses memiliki kandungan protein kasar sebesar 3,1%, serat kasar sebesar 0,6%, senyawa molasse yang terdiri dari bahan ekstrak tanpa nitrogen sebesar 83,5%, lemak kasar sebesar 0,9% dan abu sebesar 11,9%.

Pada media ransum tanpa molasses (R1) populasi total bakteri cenderung stabil dengan waktu bertahan hidup cukup lama yaitu sampai jam ke-6, berbeda dengan media ransum dengan penambahan molasses 1,6% (R2) mengalami peningkatan yang signifikan dan bertahan hidup cukup singkat yaitu sampai jam ke-4. Pada jam ke-0 (awal inkubasi) pada media ransum jumlah sel $6,27 \times 10^5$ CFU/g. Pada waktu ini populasi bakteri berada di fase eksponen, dimana fase ini mengalami peningkatan jumlah sel membelah dua kali lipat dengan kecepatan membelah yang sama. Pada jam ke-2 populasi bakteri mengalami penurunan yaitu dengan jumlah sel $6,16 \times 10^5$ CFU/g sampai pada jam ke-4 dengan jumlah sel $6,08 \times 10^5$ CFU/g. Pada jam ke-6 populasi bakteri mengalami peningkatan kembali yaitu ditandai dengan adanya fase eksponen dimana fase ini mengalami peningkatan jumlah sel membelah dua kali lipat dengan kecepatan membelah yang sama yaitu dengan jumlah sel $6,20 \times 10^5$ CFU/g, dan pada jam ke-6 pula populasi bakteri mengalami penurunan dengan jumlah sel $6,20 \times 10^5$ CFU/g. Pada jam ke-8 dan ke-10 populasi bakteri mengalami penurunan sekaligus mengalami fase

kematian ditandai dengan tidak adanya populasi bakteri yang tumbuh.

Komposisi ransum menurut Saputro (2016) terdiri dari campuran bahan-bahan pakan yang meliputi dedak, tepung jagung, ampas tahu, tepung ikan, mineral, molase, minyak sawit, lisin, metionin lalu dibuat dalam bentuk *pellet* dan diberikan pada itik. Amrullah (2003) menambahkan bahwa penyusunan ransum itik petelur maupun pedaging memerlukan informasi mengenai kandungan nutrisi dari bahan-bahan penyusunnya, sehingga dapat mencukupi kebutuhan nutrisi molasses dalam jumlah dan persentase yang diinginkan. Nutrien dalam molase meliputi protein, serat kasar, kalsium (Ca) dan fosfor (P). Sumber nutrien utama dalam molase yang terdapat dalam ransum adalah karbohidrat dan lemak sebagai sumber energi. Energi yang diperlukan itik berbeda, sesuai tingkat umurnya, jenis kelamin dan cuaca. Selain molase, nutrien yang terkandung dalam ransum perlakuan menjadi penentu lingkungan untuk bertahan hidupnya isolat BAL.

Pertumbuhan BAL meliputi proses yang kompleks, diawali dengan masuknya nutrisi ke dalam sel, kemudian nutrisi diubah menjadi organel sel. Selanjutnya digunakan untuk replikasi kromosom, setelah itu terjadi pembelahan sel menjadi dua sel anakan, kemudian terjadi peningkatan jumlah dan ukuran sel (Moat *et al.*, 2002). Pelczar *et al.*, (1993) menyatakan gula merupakan nutrient utama sel yang digunakan untuk respirasi sel atau sumber energi utama. Metabolisme dapat menghasilkan glukosa yang diperlukan untuk kerja sel, sintesis organel sel dan untuk membentuk generasi baru.

Ransum sebagai media pertumbuhan BAL memiliki kandungan nutrien berupa protein, lemak, karbohidrat, bahan kering, serat kasar yang mungkin menyumbangkan nutrien bagi pertumbuhan BAL. Nutrien protein pada media ransum dalam bentuk lisin dan metionin, kedua asam amino tersebut merupakan monomer dari protein (Tarigan, 2010). Asam amino yang dihasilkan dari perombakan protein digunakan sebagai sumber nitrogen untuk meningkatkan viabilitas BAL tersebut (Mardiani *et al.*, 2013). Nutrien dalam jagung, mengandung lemak, dan dapat dipecah menjadi asam lemak, dan asam lemak akan digunakan oleh BAL untuk mempertahankan daya hidupnya. Nutrien karbohidrat pada ransum dalam bentuk dedak padi, Selain itu kandungan karbohidrat dedak padi juga cukup tinggi sekitar 40-49% sehingga dapat digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan BAL. Karbohidrat yang tersedia dedak padi merupakan sumber karbon untuk menghasilkan ATP yang dapat memfasilitasi aktivitas mikroorganisme dalam melakukan proses fermentasi (Irlbeck, 2000).

Berdasarkan uji antagonis dengan menggunakan metode *spread* dan *point plate* hasilnya diperoleh bahwa diantara isolat BAL sebagai starter dinyatakan tidak saling membunuh antar isolat atau hasilnya tidak antagonis.

Viabilitas populasi BAL pada media ransum yang ditambahkan molasses 1,6 % pada media tumbuh mampu menjaga viabilitas BAL yang dapat digunakan sebagai probiotik dalam pengembangan usaha ternak. Hasil penelitian diperoleh populasi bakteri pada media ransum yang ditambahkan molasses 1,6% (R2) dapat mempertahankan populasi BAL pada jam ke-4 dengan jumlah sel $7,36 \times 10^5$ CFU/g, sedangkan populasi bakteri pada media ransum tanpa molase (R1) dapat mempertahankan populasi BAL pada jam ke-6 dengan jumlah sel $6,20 \times 10^5$ CFU/g. Viabilitas populasi BAL pada media ransum yang bermolase 1,6% (R2) mengalami peningkatan terhadap lama waktu penyimpanan pada jam ke-4 yaitu dengan jumlah sel $7,36 \times 10^5$ CFU/g, sedangkan pada media ransum tanpa molase (R1) mengalami penurunan jumlah sel $6,08 \times 10^5$ CFU/g.

Aplikasi probiotik pada pakan dengan media ransum dilihat dari hasil penelitian, maka sebaiknya sejak preparasinya segera diberikan kepada unggas. Aplikasi probiotik pada ransum unggas ini sebaiknya ditambahkan molase 1,6 %, karena molase merupakan sumber glukosa yang diperlukan oleh probiotik. Dengan demikian, preparasi probiotik pada pakan dengan media ransum bermolase 1,6% yang terbaik diterapkan pada jam ke-4 dengan jumlah sel $7,36 \times 10^5$ CFU/g.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan: penambahan molase 1,6% dalam ransum (R2) sebagai media dapat mempertahankan jumlah populasi isolate BAL pada jam ke-4 dengan jumlah sel $7,36 \times 10^5$ CFU/g, sedangkan pada media ransum tanpa molase (R1) dapat mempertahankan jumlah populasi BAL yaitu pada jam ke-4 dengan jumlah sel $6,08 \times 10^5$ CFU/g. Viabilitas populasi BAL pada media ransum dengan penambahan molase 1,6% (R2) mengalami peningkatan terhadap lama waktu penyimpanan pada jam ke-4 yaitu dengan jumlah sel $7,36 \times 10^5$ CFU/g, sedangkan pada media ransum tanpa molase (R1) sel $6,08 \times 10^5$ CFU/g. Selanjutnya dalam media ransum bermolasses (R2) populasi BAL dapat bertahan sampai jam ke 7 inkubasi, dengan demikian introduksi BAL dalam ransum selama 7 jam tetap hidup dan preparasi probiotik dalam ransum dapat diterapkan kepada ransum ternak unggas.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrullah, I. K. 2003. Nutrisi Ayam Petelur. Lembaga Satu Gunung Budi. Bogor.
- Hermawati, A. N. 2013. Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Rumen Sapi Dalam Media Konsentrasi Molases. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Hidayat, N.M.C dan Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Andi. Jakarta
- Irianingrum R. 2009. Kandungan Asam Fitat dan Kualitas Dedak Padi yang di simpan dalam Keadaan Anaerob. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Irlbeck, N.A. 2000. Basics of Alpaca Nutrition. Alpaca Owners and Breeder Association Annual. *Conference Proceedings*. June 4. Louisville.
- Kristiyanti, M. 2015. Viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Media Tumbuh yang Dimodifikasi dengan Tepung Ikan. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Mardiani A, Juni S, Triana S. 2013. Total Bakteri Asam Laktat, Kadar Air dan Protein Keju Peram Susu Kambing Yang Mengandung Probiotik Lactobacills casei Dan Bifidobacterium longum. *Jurnal Ilmiah Peternakan* 1(1) : 244-245. Fakultas Peternakan. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto
- Moat, G.A., W. J. Foster And P.M. Spector. 2002. *Microbial Physiology. fourth edition*. Wiley Liss. United States of Amerika.
- Pelczar, J. M., E. S. C. Chan, R. K. Noel dan D. E. Diane. 1993. *Microbiology Concept and Application*. MC Graw Hill. New York
- Pelczar MJ dan E.C.S. Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Priyono. 2009. Penggunaan Molases Untuk Meningkatkan Pupuk. Mahasiswa Magister Ilmu Ternak UNDIP. Semarang. Fakultas Peternakan, Universitas Ponogoro.
- Saputro, B. 2016. Pengaruh Ransum Yang Berbeda Pada Itik Jantan Terhadap Jumlah Leukosit dan Diferensial Leukosit. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Supriyanto, A., A.N. Heryani, Ni'matuzahroh 2012. Studi Viabilitas dan Pola Pertumbuhan *Bacillus megaterium* pada Konsentrasi Molase dan Waktu Inkubasi yang Berbeda. Program Studi S-1, Biologi, Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga agussupriyanto@unair.ac.id.
- Sutrisna, R. 2013. Karakterisasi isolat Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik (*Anas domestica*) Terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella pullorum*. Makalah Seminar Nasional Sains & Teknologi V, Lembaga Penelitian Universitas Lampung.
- Tarigan, T. N. 2010. Penggunaan Asam Amino Metionin dan Lisin dalam Ransum Terhadap Karkas Broiler Umur Enam Minggu. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.