

Potensi Penambahan Probiotik (*Lactobacillus pentosus* K50) untuk Meningkatkan Kualitas Pakan Ikan Air Tawar

Helena Daten¹⁾, Tri Ardyati^{1)*}

¹⁾Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya

^{*)}Alamat korespondensi: tri_ardiyati@yahoo.com

ABSTRAK

Pakan merupakan sumber nutrisi bagi ikan yang dapat diproses dengan penambahan probiotik. Probiotik merupakan mikroba yang berperan untuk meningkatkan kesehatan inang dan kualitas pakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas bakteri asam laktat (BAL), jumlah bakteri *Salmonella* dan *coliform*, kapang, serta kandungan nutrisi pakan yang difermentasi. Perlakuan fermentasi terdiri dari tanpa penambahan BAL (kontrol), penambahan BAL Sp. 1, probiotik (*Lactobacillus pentosus* K50), dan bakteri konsorsium (*Lactobacillus pentosus* K50 dan BAL Sp. 1). Jumlah BAL, *Salmonella* dan *coliform* serta kapang dideteksi dengan metode *Total Plate Count*. Kandungan protein diuji menggunakan metode Kjeldahl, karbohidrat dengan metode *total carbohydrate by difference*, dan lemak, abu, serta air dengan metode gravimetri. Viabilitas BAL pada perlakuan penambahan BAL Sp.1 mengalami penurunan dari hari ke-0 sampai 20, sedangkan perlakuan dengan penambahan *Lactobacillus pentosus* K50 dan konsorsium meningkat dari hari ke-0 sampai 20 berturut-turut $12,6 \times 10^8$ cfu/g menjadi $17,4 \times 10^8$ cfu/g dan $11,2 \times 10^8$ cfu/g menjadi $14,9 \times 10^8$ cfu/g. Bakteri *Salmonella* tidak tumbuh dalam pakan kontrol dan fermentasi. Jumlah bakteri *coliform* dan kapang dalam pakan terfermentasi dengan perlakuan probiotik dan bakteri konsorsium mengalami penurunan hari ke-5 sampai 20. Jumlah kapang pada perlakuan dengan penambahan BAL Sp. 1 mengalami fluktuasi disebabkan meningkatnya kadar air selama fermentasi. Kandungan protein relatif stabil, sedangkan kandungan lemak, karbohidrat, dan abu mengalami penurunan selama fermentasi. Penambahan probiotik dalam pakan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *coliform* dan kapang, serta menjaga stabilitas nutrisi pakan.

Kata kunci: fermentasi, pakan ikan, probiotik, protein, viabilitas BAL

Potency of Probiotic (*Lactobacillus pentosus* K50) Application to Improve Feed Quality of Freshwater Fish

Helena Daten¹⁾, Tri Ardyati^{1)*}

¹⁾Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Brawijaya University

^{*)}Email: tri_ardiyati@yahoo.com

ABSTRACT

Feed is the nutrition sources for fish which could be processed by applying probiotic. Probiotic is microbe applied to improve the health of host and feed quality. The objective of this study was to observe the viability of lactic acid bacteria (LAB), number of *Salmonella*, *coliform* and mold also nutritional contents of fermented feed. Fermentation treatment consisted of feed without application of LAB (control), application of LAB Sp. 1, probiotic (*Lactobacillus pentosus* K50) and consortium bacteria (*Lactobacillus pentosus* K50 and LAB Sp. 1). The density of LAB, *Salmonella*, *coliform*, and mold was counted using Total Plate Count method. Protein content was assayed using Kjeldahl method; carbohydrate content was assayed using *total carbohydrate by difference* method; and fat, ash also water content were assayed using gravimetric method. Viability of LAB in the feed treated with LAB Sp. 1 decreased from 0 to 20 days, while application of *Lactobacillus pentosus* K50 and consortium bacteria increased the viability 0 to 20 days from 12.6×10^8 cfu/g to 17.4×10^8 cfu/g and 11.2×10^8 cfu/g to 1.9×10^8 cfu/g, respectively. *Salmonella* bacteria was not detected in all fermented feeds. The number of *coliform* and mold in fermented feeds treated of probiotic as well as consortium bacteria decreased from 5 to 20 days. The number of mold in feeds treated with LAB Sp. 1 was fluctuated due to the increasing of water content during fermentation. However, protein content was relatively stable. While fat, carbohydrate, and ash content decreased during fermentation. Application of probiotic inhibited *coliform* and mold growth, also maintained the stability of feed nutrition.

Keywords: fermentation, fish feeds, probiotic, protein, viability of LAB

PENDAHULUAN

Berkembangnya perikanan air tawar perlu didukung oleh tersedianya pakan. Kondisi ini kurang menguntungkan bagi peternak ikan skala kecil karena biaya untuk membeli pakan sangat besar yang berimbas pada rendahnya keuntungan yang diterima. Situasi ini diperparah dengan lokasi peternak ikan yang jauh dari pabrik pakan sehingga dibutuhkan banyak biaya [1].

Probiotik menurut WHO [2]) adalah mikroba hidup dalam jumlah yang cukup dapat memberikan manfaat kesehatan inangnya. Jumlah yang cukup dimaksud oleh WHO adalah 10^6 - 10^8 cfu/g dan dapat berkembang menjadi 10^{12} cfu/g di dalam kolon. Mekanisme kerja probiotik dengan menekan populasi mikroba patogen melalui kompetisi memproduksi senyawa-senyawa antimikroba atau kompetisi nutrisi dan merubah metabolisme mikrobial dengan meningkatkan atau menurunkan aktivitas enzim pengurai. Selain itu, probiotik juga menstimulasi imunitas melalui peningkatan kadar antibodi organisme akuatik atau aktivitas makrofag. Salah satu bakteri yang berpotensi sebagai probiotik adalah *Lactobacillus pentosus* K50. Bakteri ini dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen seperti *E. coli* dengan luas zona bening 73,25 mm², *Salmonella thypimurium* dan *Helicobacter pylori* dengan luas zona bening berturut-turut 160,91 mm² dan 353,48 mm². Bakteri ini hidup pada pH 5 dan 7,5 serta konsentrasi garam empedu 0-0,3 % [3]. Kualitas pakan ikan yang baik tidak mengandung *Salmonella*, *coliform* maksimum 3 koloni/g, kapang maksimum 50 koloni/g, dan aflatoksin maksimum 50 koloni/g [4]. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian adalah mengetahui viabilitas bakteri asam laktat (BAL), jumlah bakteri *Salmonella* dan *coliform*, kapang, serta kandungan nutrisi pakan yang difermentasi.

METODE PENELITIAN

Komposisi dan Proses Pembuatan Pakan Ikan. Komposisi pakan ikan adalah tepung ikan 55 kg, tepung tapioka 5 kg, dedak 17,5 kg, *pollard* 5 kg, CGF 12,5 kg, vitamin 2 kg, dan *feed additive* 3 kg (molase 2 kg + minyak ikan 1 kg) serta ditambahkan 0,5 kg minyak sayur. Bahan-bahan yang berbentuk cair dicampurkan dengan tepung tapioka

menggunakan *vertical mixer*. Setelah itu, semua bahan dicampur menggunakan *horizontal mixer* selama 30 menit.

Isolasi BAL dan Uji Sinergisme. Isolasi BAL dari pakan ikan menggunakan media *de Man Rogosa Sharpe* (MRS) agar yang mengandung CaCO₃ 1 % dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Isolat murni hasil isolasi dilakukan cat Gram dan uji katalase. Uji sinergisme dilakukan dengan digores silang antar isolat BAL dengan *L. pentosus* K50 dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Sinergisme terjadi apabila kedua isolat dapat tumbuh tanpa menghasilkan zona hambat.

Fermentasi Pakan. Jumlah sel BAL yang ditambahkan dalam fermentasi adalah 10^9 cfu/g. Kontrol adalah pakan yang tidak ditambahkan BAL Sp. 1, probiotik, dan bakteri konsorsium. Perlakuan fermentasi terdiri dari penambahan BAL Sp. 1, *Lactobacillus pentosus* K50, dan bakteri konsorsium (BAL Sp. 1 dan *Lactobacillus pentosus* K50) 10 % dalam 200 g masing-masing pakan. Uji viabilitas BAL, deteksi bakteri *Salmonella*, *coliform*, kapang dan kandungan nutrisi serta pH diukur pada hari ke-0, 5, 10, 15, dan 20.

Uji Viabilitas BAL dan Kandungan Mikroba Pencemar. Uji viabilitas BAL dan jumlah mikroba pencemar dalam pakan menggunakan metode *Total Plate Count*. Uji viabilitas BAL menggunakan media MRS agar yang mengandung CaCO₃ 1 % dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Isolasi kapang menggunakan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang mengandung 50 ppm streptomycin dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam, sedangkan bakteri *Salmonella* dan *coliform* dalam media *xylose lysine deoxycholate* (XLD) agar dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam.

Penentuan Kadar Protein dengan Metode Kjeldahl, kadar Lemak, Air, Abu, dan Karbohidrat. Prinsip kerja uji protein adalah destruksi, destilasi dan titrasi [5]. Kandungan lemak dihitung secara gravimetri [6]; kandungan air dihitung secara gravimetri [7]; kandungan abu dihitung secara gravimetri [8]; dan analisis karbohidrat menggunakan metode *total carbohydrate by difference* [9].

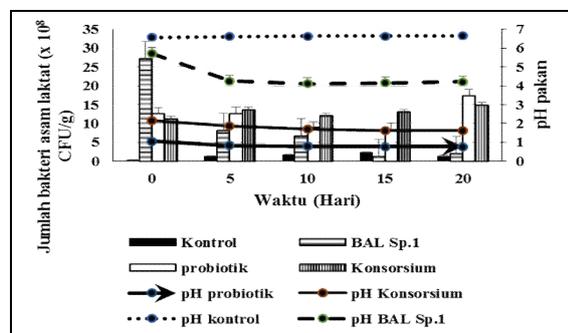
Analisis Data. Analisis data dengan *one way ANOVA* menggunakan SPSS 16.0. Analisis

ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan viabilitas BAL, bakteri *Salmonella*, *coliform*, kapang, dan kandungan nutrisi dalam pakan selama fermentasi pada berbagai perlakuan. Masing-masing perlakuan diuji statistik dengan tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha=0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri asam laktat yang diperoleh dari pakan ikan sebanyak tujuh isolat. Ketujuh isolat tersebut adalah isolat Sp. 1, Sp. 2, Sp. 3, Sp. 4, Sp. 5, Sp. 6, dan Sp. 7. Semua isolat mempunyai bentuk bulat, Gram positif dan ukuran sel $\pm 1\mu\text{m}$, serta katalase negatif. Isolat yang menunjukkan tidak ada antagonisme dengan *L. pentosus* K50 hanya isolat BAL Sp.1

Viabilitas Bakteri Asam Laktat dalam Pakan Ikan. Jumlah sel BAL Sp. 1 yang ditambahkan dalam fermentasi pakan sebanyak $1,01 \times 10^9$ cfu/g. Peningkatan jumlah BAL dalam pakan kontrol tidak drastis sehingga perubahan pH juga relatif stabil pada hari ke-0 sampai 20. Penurunan jumlah BAL setelah ditambahkan BAL Sp. 1 terjadi pada hari ke-10 sampai 20 (Gambar 1).



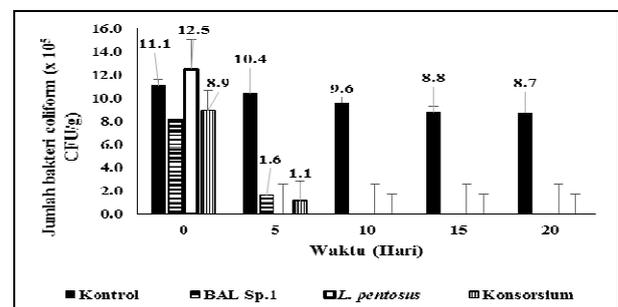
Gambar 1. Viabilitas BAL dan perubahan pH selama fermentasi pakan

Jumlah sel *L. pentosus* K50 yang ditambahkan dalam fermentasi sebanyak $1,089 \times 10^9$ cfu/g. Jumlah BAL mengalami penurunan pada hari ke-10 sampai 15 berturut-turut sebanyak $8,9 \times 10^8$ cfu/g menjadi $8,4 \times 10^8$ cfu/g (Gambar 1). Penurunan jumlah BAL diikuti dengan penurunan pH 4,01 menjadi 3,92. Bakteri *L. pentosus* K50 dapat hidup pada pH 4-7 [3], sedangkan BAL umumnya dapat tumbuh pada kisaran pH 3-7. Selain itu, penurunan jumlah BAL disebabkan akumulasi asam laktat yang semakin banyak mengakibatkan tidak terjadi transport unsur

hara ke dalam sel [10]. Peningkatan BAL terjadi kembali pada fermentasi hari ke-20. Hal ini terjadi karena pada hari ke-20 kandungan air meningkat dan protein relatif stabil (Gambar 4) sehingga digunakan sebagai nutrisi untuk tumbuh.

Jumlah sel bakteri konsorsium masing-masing yang ditambahkan dalam fermentasi sebanyak $1,085 \times 10^9$ cfu/g (BAL Sp. 1) dan $1,012 \times 10^9$ cfu/g (*L. pentosus* K50). Viabilitas BAL setelah ditambahkan bakteri konsorsium mengalami penurunan jumlah selama fermentasi hari ke-5 sampai ke-15. Peningkatan jumlah BAL terjadi pada hari ke-20 sebanyak $14,9 \times 10^8$ cfu/g. Meningkatnya jumlah BAL selama fermentasi disebabkan aktivitas proteolitik BAL dalam memecah protein menjadi asam amino dan peptida yang digunakan sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhan dan memperbanyak sel [10].

Jumlah Bakteri *Salmonella* dan *Coliform* dalam Pakan Ikan. Bakteri yang dideteksi dalam pakan sebagai kontrol kualitas adalah *Salmonella* dan *coliform*. Bakteri *Salmonella* tidak tumbuh dalam pakan kontrol dan pakan fermentasi. Jumlah bakteri *coliform* dalam pakan kontrol hari ke-0 menurun sampai hari ke-20 (Gambar 2).



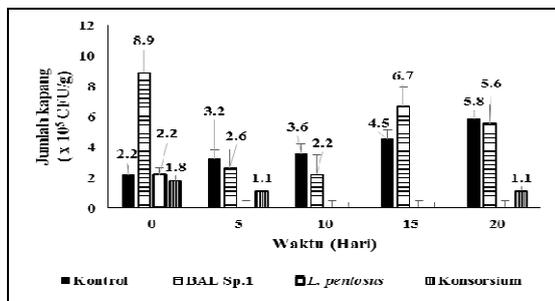
Gambar 2. Jumlah bakteri *coliform* selama fermentasi pakan

Jumlah bakteri *coliform* menurun selama fermentasi dengan penambahan BAL Sp. 1 yaitu pada hari ke-0 sebanyak $8,2 \times 10^5$ cfu/g dan pada hari ke-5 sebanyak $1,6 \times 10^5$ cfu/g. penambahan BAL Sp. 1 dengan jumlah *coliform* berkorelasi lemah karena jumlah BAL selama fermentasi mengalami penurunan yang drastis (Gambar 2). Jumlah *coliform* yang tumbuh dalam pakan fermentasi dengan penambahan *L. pentosus* K50 pada hari ke-0 sebanyak $12,5 \times 10^5$ cfu/g dan tidak tumbuh sampai hari ke-20. Kandungan bakteri *coliform* setelah ditambahkan bakteri konsorsium pada hari ke-0 sebanyak 9×10^7 cfu/g dan masih terdapat *coliform* yang tumbuh pada hari ke-5 karena wadah dan proses pengadukan saat fermentasi kurang steril sehingga terkontaminasi

dengan mikroba patogen. Penurunan jumlah *coliform* terjadi karena penumpukan asam laktat menyebabkan kebocoran nutrisi dan menghambat kerja enzim intraseluler sehingga menghambat proses metabolisme sel [10].

Jumlah Kapang dalam Pakan Ikan.

Jumlah kapang dalam pakan kontrol meningkat dari hari ke-0 sampai hari ke-20. Jumlah kapang dalam pakan yang difermentasi dengan penambahan BAL Sp. 1 mengalami fluktuasi (Gambar 3). Kapang dengan kadar air berkorelasi kuat karena semakin tinggi kadar air maka jumlah kapang semakin banyak. Jumlah kapang yang meningkat disebabkan komposisi pakan yang berasal dari biji-bijian yang mengandung air, karbohidrat, protein, mineral, lemak, dan vitamin yang merupakan nutrisi pendukung tumbuhnya kapang.



Gambar 3. Jumlah kapang selama fermentasi pakan

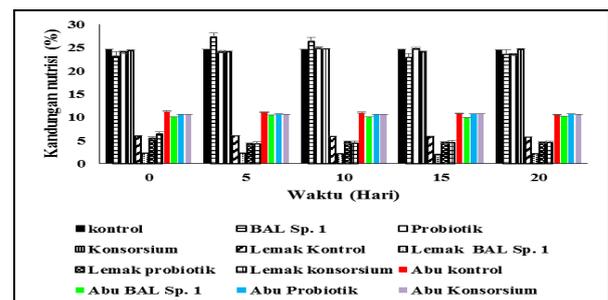
Jumlah kapang dalam pakan fermentasi yang ditambahkan *L. pentosus* K50 tidak tumbuh selama fermentasi hari ke-5 sampai 20. Hal ini terjadi karena hasil metabolisme berupa asam laktat bekerja menghambat mikroba patogen dengan melepaskan proton dari grup karboksilik yang mengakibatkan penurunan pH lingkungan, untuk menyeimbangkan pH internal maka sel mengeluarkan banyak energi menyebabkan sel kehilangan viabilitas. Penambahan *L. pentosus* K50 berkorelasi negatif dengan jumlah kapang yaitu semakin banyak *L. pentosus* K50 yang ditambahkan maka semakin sedikit jumlah kapang.

Jumlah kapang dalam pakan yang difermentasi dengan penambahan bakteri konsorsium mengalami penurunan jumlah pada hari ke-5, tetapi tumbuh pada hari ke-20 (Gambar 3), karena BAL bekerja tidak maksimal sehingga asam laktat yang dihasilkan tidak melawan pertumbuhan kapang. Menurut Damayanti dkk [11] dalam kondisi ekstrim asam laktat tidak bersifat

sebagai penghambat, tetapi sebagai faktor pendukung pertumbuhan kapang dan dapat bersifat sebagai kofaktor dalam pembentukan aflatoksin. Mekanisme ini didasarkan teori bahwa pada suatu substrat yang mempunyai konsentrasi asam laktat yang berlebih maka sel berusaha untuk mengoksidasi kembali asam laktat tersebut menjadi piruvat untuk mendapatkan energi dan mekanisme proteksi terhadap lingkungan yang ekstrim.

Kandungan Nutrisi dalam Pakan Ikan.

Kandungan nutrisi pakan terdiri dari protein, lemak, air, abu, dan karbohidrat. Kandungan karbohidrat pakan kontrol dan pakan yang difermentasi dengan penambahan BAL Sp. 1, *L. pentosus* K50, dan bakteri konsorsium mengalami penurunan pada hari ke-0 sampai hari ke-20. Kadar air setelah fermentasi mengalami peningkatan menjadi lebih dari 12 %. Air yang dihasilkan merupakan air bebas yang akan menguap saat pengeringan menggunakan cahaya matahari atau oven.



Gambar 4. Kandungan protein, lemak, dan abu dalam pakan

Kandungan protein, lemak, dan abu dalam pakan kontrol dan penambahan BAL Sp. 1 mengalami penurunan pada hari ke-0 sampai 20. Kandungan protein dalam pakan yang difermentasi *L. pentosus* K50 dan bakteri konsorsium relatif stabil pada hari ke-0 sampai 20 berturut-turut sebanyak 24,71 % menjadi 24,05 % dan 24,4 % menjadi 24,66 % (Gambar 4). Penurunannya disebabkan aktivitas proteolitik BAL dalam memecah protein menjadi asam amino dan peptida yang digunakan sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhannya [12]. Berdasarkan kandungan protein dalam pakan yang difermentasi dengan BAL Sp. 1, *L. pentosus* K50, dan bakteri konsorsium maka protein tersebut cocok untuk jenis ikan Patin usia pembesaran karena protein yang dibutuhkan ikan patin usia pembesaran adalah 25 % [13]. Penurunan jumlah lemak karena BAL memiliki aktivitas lipolitik

sekunder yang dapat memecah lemak menjadi senyawa kimia yang lebih sederhana. Penurunan jumlah abu terjadi karena mikroba menggunakan mineral untuk mempertahankan hidupnya meskipun dalam jumlah yang sedikit. Berdasarkan ketiga perlakuan tersebut dapat disimpulkan bahwa fermentasi dengan penambahan *L. pentosus* K50 dapat meningkatkan kualitas pakan ikan karena tidak menurunkan jumlah nutrisi pakan dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba pencemar.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian adalah viabilitas BAL dalam tiga perlakuan fermentasi pakan pada hari ke-0 sampai 20 relatif stabil sebanyak 10^8 cfu/g. Bakteri *Salmonella* tidak tumbuh dalam pakan kontrol dan fermentasi. Pakan dengan penambahan BAL Sp. 1 dapat menghambat pertumbuhan *coliform* tetapi tidak menghambat pertumbuhan kapang. Bakteri *L. pentosus* K50 dan konsorsium dapat menurunkan jumlah *coliform* dan kapang. Kandungan protein relatif stabil pada pakan yang difermentasi dengan penambahan BAL, probiotik dan bakteri konsorsium. Kandungan lemak, abu, dan karbohidrat mengalami penurunan tidak drastis, sedangkan air semakin meningkat selama proses fermentasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Balai Besar Perikanan Budidaya Air Tawar, Sukabumi, Jawa Barat yang sudah mensuplai pakan ikan dan Ibu Dra. Nanik Dwi Rahayu selaku laboran Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sarry, I. R. 2013. *Produksi pakan buatan*, Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan, Jakarta.
- [2] WHO. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, *FAO Food and Nutrition Paper*. 2-18.
- [3] Karim, A. 2016. Uji potensi bakteri asam laktat dari susu Kuda Sumbawa (*Equus ferus caballus*) sebagai probiotik.

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya. Malang, *Skripsi*.

- [4] SNI. 2009a. Pakan buatan untuk ikan gurami (*Osphronemus goramy*, Lac.), *SNI* 65.120-7548.
- [5] Magomya, A.M., D. Kubmarawa., J. A. Ndahi & G.G. Yebpella. 2014. Determination of Plant Protein Via The Kjeldahl Method and Amino Acid Analysis: A Comparative Study. *International Journal of Scieentific & Technology Research*. **3** (4): 2277-8616.
- [6] SNI. 2006a. Cara uji kimia penentuan kadar lemak total pada produk perikanan, *SNI* 01-2354.3.
- [7] SNI. 2006b. Cara uji kimia penentuan kadar air pada produk perikanan, *SNI* 01-2354.2.
- [8] LU-BBPBATS. 2015. Metode pengujian kadar abu, *LU-BBPBATS-III*,5.4.1.23.
- [9] SNI. 1992. Cara uji makanan dan minuman, *SNI* 01-2891.
- [10] Al-rawi, A. A. M. M & A. T. Al-mola. 2009. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from minced beef meat against some pathogenic bacteria. *Iraqi Journal of Veterinary Science*. **23** (1): 115-117.
- [11] Damayanti, E., A. E. Suryani., A. Sofyan, M. F. Karimy & H. Julendra. 2015. Seleksi bakteri asam laktat dengan aktivitas anti jamur yang diisolasi dari silase dan saluran cerna ternak. *Journal of Agritechnology*. **35** (2): 164-169.
- [12] Nisa, A. K & A. K. Wardani. 2016. Pengaruh lama pengasapan dan lama fermentasi terhadap sosis fermentasi ikan Lele (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **4** (1): 367-376.
- [13] SNI. 2009b. Pakan buatan untuk ikan Patin (*Pangasius sp.*), *SNI* 65.120-7548.

