

Pengaruh *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen pada Saluran Pencernaan Ayam Pedaging (*Gallus gallus domesticus*)

Siska OktaFina Diarlin¹, Tri Ardyati¹, Osfar Sjojjan²

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

2) Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya

Jl. Veteran no. 169 Malang, Email : Anak_Tuhan40@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang terdapat pada saluran pencernaan ayam pedaging (*Gallus gallus domesticus*). Penelitian ini menggunakan 12 sampel ayam pedaging strain Lohman yang terbagi menjadi 4 kandang dan setiap kandang terdiri dari 3 ekor ayam pedaging sebagai ulangan. Langkah pertama yang dilakukan adalah pembuatan starter menggunakan media MRS Broth yang dilanjutkan dengan inokulasi ke dalam media bekatul 9 % untuk dibuat kurva pertumbuhan. Setelah jumlah bakteri mencapai 10^7 sel/ml dibuat masing-masing suspensi isolat dengan konsentrasi 0 %, 5 %, 10 %, dan 15 % pada pakan konsentrat. Penambahan suspensi pada pakan diberikan saat ayam pedaging berumur 14 hari. Perhitungan jumlah bakteri patogen (*E. coli*) dari feses ayam pedaging usia 14 hari (sebelum perlakuan) dan 35 hari (setelah perlakuan) menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*) pada media EMB (*Eosin Metil Blue*) Agar. Penimbangan berat badan ayam dilakukan setiap minggu. Data dianalisis menggunakan ragam ANOVA yang dilanjutkan dengan Dunken. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi suspensi *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* yang dapat menurunkan jumlah populasi *E. coli* sebesar 39,6 % ($3,1 \times 10^7$ sel/ml) dari populasi awal serta memberikan penambahan berat badan ayam pedaging terbaik (2,53 kg) adalah konsentrasi 5 %.

Kata Kunci : Ayam pedaging, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*, starter

ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus salivarius* in inhibiting the growth of bacteria *E. coli* were found in the digestive tract of broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*). This study uses the method of inoculation of *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus salivarius* of Man ROGOSA media Sharpe (MRS) broth into a concentrate feed. The growth curve and using media starter bran 9%. The next 10^7 CFU / ml suspension made each isolate as much as 0%, 5%, 10%, and 15%. Detection of the number of pathogenic bacteria of faecal samples of broilers aged 14 days before treatment and 35 days after treatment with the method of TPC (*Total Plate Count*) on EMB media (*Ethylene Methyl Blue*). Data were analyzed using SPSS 16.0 software to look for a correlation between the number of bacterial pathogens with weight gain. ANOVA analysis of variance followed by Dunken. The conclusion of this study showed that the concentration of the suspension of *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus salivarius* can inhibit the growth of pathogenic bacteria to degrade 39,6 % ($3,1 \times 10^7$ cell / ml) of the initial population and providing the best broiler weight gain gives an increase of 2.53 kg is 5%

Keywords: Broiler, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*, starter

PENDAHULUAN

Ayam pedaging (*Broiler*) merupakan salah satu hewan ternak yang mudah terserang penyakit. Salah satu jenis penyakit yang sering menyerang peternakan unggas adalah infeksi bakteri [9]. Salah satu upayanya yaitu dengan memberikan antibiotik yang dicampur dalam ransum pakan atau air minum. Selain menggunakan antibiotik, pengendalian penyakit

akibat infeksi mikroorganisme juga dilakukan dengan penambahan probiotik. Probiotik memiliki peran yang baik dalam membantu memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan dan dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh (imunitas), sehingga banyak dimanfaatkan dalam meningkatkan produksi ternak serta mencegah terjadinya kontaminasi produk-produk pangan oleh bakteri, khususnya bakteri patogen [10]

Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan atau minuman yang memberikan efek kesehatan bagi manusia maupun hewan. Bakteri probiotik mampu menghasilkan asam laktat. Asam laktat yang terbentuk mengakibatkan kondisi menjadi asam yang menyebabkan menurunnya pH. Penurunan pH ini terjadi akibat aktifitas bakteri probiotik dalam mengubah senyawa protein dan gula menjadi asam laktat, kondisi asam yang terbentuk inilah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain, terutama bakteri patogen yang tumbuh dalam pH normal [6]

Menurut Laily [5] bakteri asam laktat dikelompokkan ke dalam beberapa genus antara lain *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Lactobacillus*. *Lactobacillus* sp. merupakan salah satu bakteri probiotik yang menguntungkan karena terdapat di dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan.

Lactobacillus sp. dapat membantu memperbaiki sistem pertahanan usus baik dengan membentuk koloni pada mukosa usus dan membantu penyerapan nutrisi. Peningkatan jumlah koloni bakteri asam laktat (BAL) mampu memproduksi asam-asam organik yang mencegah kolonisasi bakteri patogen dalam usus halus sehingga kemampuan kolonisasi bakteri patogen pada usus juga berkurang, sehingga bakteri patogen hanya berada dalam lumen dan akan dikeluarkan bersama feses [5].

Adapun kriteria probiotik yang harus dimiliki adalah kemampuan untuk membentuk kolonisasi pada dinding usus, terutama pada bagian usus halus dan lambung dengan efek barrier yang lebih kuat melawan bakteri patogen atau menjaga ketebalan dan mempercepat penyerapan nutrisi secara optimal. Penyerapan nutrisi pakan secara optimal dapat meningkatkan penambahan berat badan ayam pedaging [6].

METODE PENELITIAN

Persiapan Inokulum *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* pada Media MRS Broth

Bakteri *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil isolasi peneliti sebelumnya yang berasal dari saluran pencernaan burung puyuh jantan berusia 2 bulan. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kedua bakteri tersebut berpotensi sebagai bakteri probiotik.

Persiapan inokulum *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* bertujuan untuk memperkaya bakteri pada media pertumbuhannya, yakni MRS Broth. Isolat *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* yang berasal dari deep freezer -70°C dicairkan hingga suhu 4°C . Kemudian bakteri diadaptasikan dengan menginokulasikan 1 ml suspensi biakan dalam 9 ml media MRS broth kemudian diinkubasi pada shaker suhu 37°C kecepatan 100 rpm selama 24 jam. Hasil adaptasi pada media MRS Broth ditumbuhkan dalam media MRS Agar untuk memperoleh isolat tunggal menggunakan metode *pour plate*. Isolat tunggal yang tumbuh dimurnikan pada media MRS Agar. Masing-masing bakteri dilakukan pengulangan sebagai stok. Dilakukan Uji konfirmasi dengan pewarnaan Gram dan Uji Katalase.

Pembuatan Kurva Pertumbuhan pada Media Bekatul 9 %

Isolat bakteri dari media MRS Broth sebanyak 5 ml diinokulasikan ke dalam 50 ml media MRS Broth, kemudian dihomogenkan. Stok inokulum bakteri kemudian diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya 20 ml stok inokulum di tambahkan pada 100 ml media bekatul 9% dalam MRS cair untuk dibuat media produksi sebanyak 200 ml. Media produksi kemudian dihomogenasi dan diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 37°C . Kerapatan sel (*Optical Density*) diukur setiap 1 jam, 2 jam dan 4 jam sekali hingga mencapai fase stationer dari pertumbuhan bakteri probiotik. Kerapatan sel (*Optical density*) diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.

Pembuatan Starter *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* pada media Bekatul 9 %

Masing-masing isolat bakteri yaitu *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* dibiakkan secara terpisah hingga mencapai 10^7 sel/ml dalam 100 ml MRS Broth. Perbandingan jumlah inokulum yang digunakan dalam pembuatan starter adalah 1:1. Kemudian disiapkan 100 MRS cair dalam beaker glass 500 ml ditambahkan 9 gram bekatul steril dan dihomogenasikan. Suspensi masing-masing isolat sebanyak 5 ml (10^7 sel/ml). Setelah diinkubasi selama 12 jam, diambil sebanyak 0 % (kontrol), 5 % (2 ml), 10 % (4 ml), dan 15 % (6

ml) dari jumlah pakan yang diberikan pada hari ke-14 (40 gram/ekor).

Penambahan *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* pada Pakan Unggas

Penelitian ini akan menggunakan 12 ekor ayam pedaging betina umur dua hari (DOC) strain Lohman 202 dengan berat badan sekitar 40-60 gram yang diperoleh dari tempat peternakan ayam potong di jalan Randu Agung 502 Singosari. Sebelum diberikan perlakuan, hewan percobaan diaklimatisasi selama 14 hari, yang meliputi; kandang, umur, dan bobot tubuh. Pada tahap aklimatisasi ini, ayam pedaging diberikan makanan standar berupa konsentrat *starter* (umur 1 - 14 hari), campuran konsentrat *grower* (umur 15 – 40 hari).

Pakan konsentrat adalah jenis pakan unggas yang siap dikonsumsi dalam bentuk bulir. Komposisi dari pakan konsentrat terdiri dari tepung jagung giling, bekatul, dan tepung ikan dengan perbandingan 60:20:10. Kandungan protein sebesar 38,58 % dan energi metabolisme sebesar 2538 %. Bentuk konsentrat berupa pecahan halus dan kasar. Pecahan halus yang sering disebut *crumble* untuk ayam pedaging berusia 1-14 hari, sedangkan untuk pecahan kasar atau *pellet* diberikan pada unggas berusia 14- 35 hari.

Ayam pedaging ditempatkan pada kandang yang terbuat dari bambu dengan *Litter* (100 x100 cm) sebanyak 4 unit dengan alas sekam padi dan alas triplek, dilengkapi dengan lampu neon, tempat ransum dan air minum. Setiap unit kandang terdiri dari 3 ekor ayam pedaging, setiap ekor diberi tanda menggunakan spidol permanen sebagai ulangan.

Biakan masing – masing bakteri yang telah tumbuh pada media MRS cair dengan masa inkubasi 8 jam sehingga diperoleh konsentrasi suspensi kurang lebih 10^8 CFU/ml pada suhu 37⁰ C *divortex* untuk mendapatkan biakan yang homogen, kemudian diambil sebanyak 0 %, 5 %, 10 %, dan 15 % dari jumlah pakan (g/ekor). Perlakuan ini dilakukan selama 5 minggu dengan frekuensi sekali pemberian dalam sehari (pada jam 16.00 WIB). Setiap hari ransum pakan di timbang untuk per ekor ayam pedaging dan setiap minggu selama perlakuan pertambahan berat badan ayam pedaging selalu di timbang juga [8].

Deteksi Jumlah Bakteri Patogen dengan Metode TPC

Ketika ayam pedaging berumur 14 hari (2 minggu) sebelum diberikan perlakuan dan sesudah perlakuan yaitu berumur 35 hari (5 minggu) dilakukan pengambilan sampel *feses* dari masing-masing sampel dengan 3 kali pengulangan. Sebanyak 5 gram *feses* dimasukkan ke dalam 45 ml NaCl 0,85% untuk memperoleh dilusi 10⁻¹ bagian. Kemudian hasil dari pengenceran 10⁻¹ bagian diambil 1 ml dengan menggunakan pipet volum dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10⁻² dan 0,1 ml ke dalam cawan petri (media EMB Agar) dilakukan hingga pengenceran 10⁻⁶ dengan metode *pour plate*. Diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 48 jam, dan selanjutnya dilakukan pengamatan dan perhitungan jumlah koloni bakteri patogen menggunakan *colony counter*.

Analisis Data

Hasil dari jumlah koloni bakteri patogen yang didapat, di analisis statistika menggunakan ragam ANOVA software SPSS 16.0 untuk mengetahui korelasi dan kebenaran dari hipotesis penelitian. Dilanjutkan dengan uji lanjutan Duncan dan Correlations.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji konfirmasi pada kedua bakteri tersebut dengan pewarnaan Gram menunjukkan bahwa keduanya Gram positif dan pada uji katalase menunjukkan hasil negatif (tabel 1).

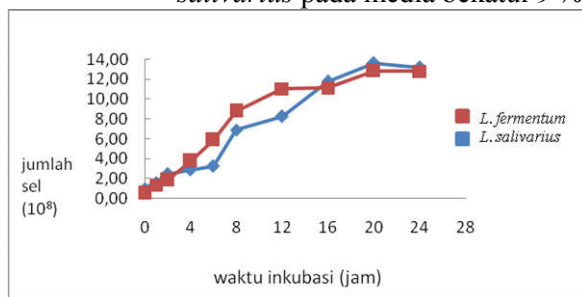
Karakter Morfologi	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus salivarius</i>
Bentuk koloni	<ul style="list-style-type: none"> • Conveks • Entire • Berwarna putih keruh (putih kekuningan) • Opaque • Bentuk Basil 	<ul style="list-style-type: none"> • Conveks • Entire • Berwarna putih • Opaque • Bentuk basil
Pewarnaan Gram	• Gram positif	• Gram Positif
Uji Katalase	Negatif	Negatif

Tabel 1. Hasil Uji konfirmasi *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius*

Dari hasil pembuatan kurva pertumbuhan pada media MRS cair diperoleh fase log pada jam ke-4 hingga jam ke-20, untuk itu perlu diketahui pula lama fase log saat media MRS cair ditambahkan dengan bekatul 9%, karena bekatul salah satu bahan dasar konsentrat pakan ayam pedaging. Berdasarkan penelitian yang

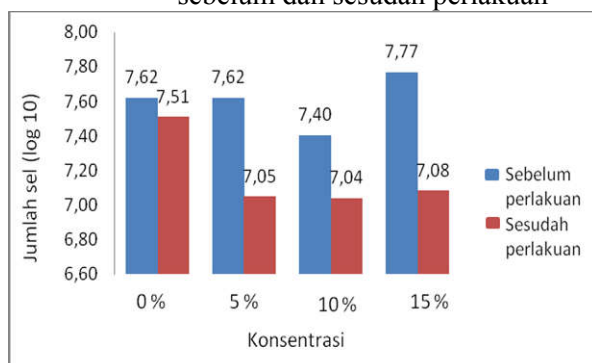
dilakukan Kalsum [4] dengan penambahan bekatul sebanyak 9% memiliki kandungan nutrisi seperti asam amino, vitamin B kompleks, vitamin D, dan mineral yang tercukupi dengan baik untuk pertumbuhan bakteri *Lactobacillus salivarius*. Hasil kurva pertumbuhan pada media MRS Broth dengan penambahan bekatul sebanyak 9% dan penurunan pH ditunjukkan pada gambar 2.

Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* pada media bekatul 9 %



Fase logaritma yang terjadi pada kurva pertumbuhan menggunakan media bekatul 9 % lebih panjang dari kurva pertumbuhan yang hanya menggunakan media MRS Broth. Lama waktu yang dibutuhkan pada fase logaritma adalah 16 jam. Waktu pada fase ini yang akan digunakan dalam penambahan probiotik pada konsentrat pakan dengan konsentrasi suspensi 0 %, 5 %, 10 %, dan 15 %. Penambahan suspensi *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* pada jam ke-8 dengan jumlah 10⁷ sel/ml sehingga saat pakan probiotik dikonsumsi oleh unggas, bakteri *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* dapat tumbuh dan memperbanyak sel dalam saluran pencernaan.

Gambar 2. Jumlah bakteri patogen (*E. coli*) sebelum dan sesudah perlakuan

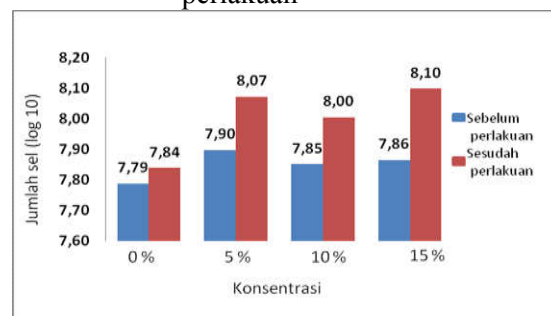


Jumlah koloni bakteri patogen (*E. coli*) pada ayam pedaging yang diberikan

Lactobacillus fermentum dan *Lactobacillus salivarius* lebih rendah jika dibandingkan dengan ayam pedaging yang tidak diberikan suspensi *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* (gambar 2). Konsentrasi terbaik dalam menurunkan jumlah bakteri *E. coli* sebesar 68,1 % adalah konsentrasi suspensi bakteri 15 %. Semakin banyak suspensi yang diberikan maka jumlah bakteri *E. coli* semakin menurun [7].

Sehubungan dengan hal ini Vernazza *et al.* [11] menyatakan bahwa, keberadaan BAL sebagai probiotik di dalam saluran pencernaan dapat menstimulasi populasi BAL lainnya dalam saluran pencernaan. Hal ini disebabkan karena bakteri probiotik dapat memodifikasi lingkungan mikroekosistem usus dengan memproduksi asam laktat, sehingga dapat menurunkan pH. Penurunan pH akan mengakibatkan pertumbuhan BAL dalam saluran pencernaan mengalami peningkatan (gambar 3).

Gambar 3. Jumlah BAL sebelum dan sesudah perlakuan



Seperti yang dijelaskan oleh husmaini dalam penelitiannya [3] bahwa keseimbangan mikroflora usus akan tercapai apabila mikroba yang menguntungkan dapat menekan mikroba yang merugikan dengan cara mendesak keluar mikroba patogen tersebut. Keseimbangan ini dapat tercapai apabila perbandingan antara mikroba yang menguntungkan terhadap mikroba yang merugikan adalah sebesar 85 : 15 atau 80 : 20.

Jumlah probiotik harus lebih banyak dari jumlah bakteri patogen. Probiotik dapat meningkatkan kesehatan dengan mekanisme sebagai berikut :

- (1) Produksi senyawa anti mikroba seperti asam laktat, asam asetat, karbondioksida, H₂O₂, bakteriosin, reuterin, dan senyawa penghambat lainnya yang dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen.
- (2) Kompetisi dalam penyerapan nutrient, dan sisi penempelan pada sel epitel usus, produksi mukus.

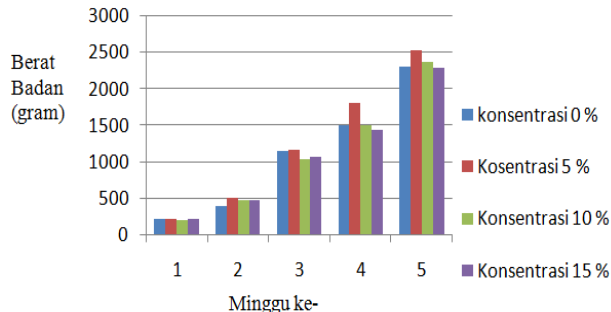
(3) menstimulasi sistem imunitas dan mampu mengubah aktivitas metabolisme mikroba dalam saluran pencernaan [2].

5 % memberikan peningkatan sebesar terbaik 2,53 kg.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada rekan-rekan peneliti Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang yang telah sangat membantu dalam proses pengerjaan penelitian ini.

Gambar 4. Pertambahan berat badan ayam pedaging selama 5 minggu



Penambahan berat badan ayam pedaging dari minggu pertama hingga minggu kelima menunjukkan peningkatan yang sama. Dengan kata lain, masing-masing konsentrasi memberikan hasil peningkatan (gambar 4). Hasil akhir pada minggu kelima menunjukkan berat paling tinggi oleh konsentrasi 5 % yaitu mencapai 2,53 kg. Korelasi antara berat badan pada minggu terakhir dengan jumlah bakteri patogen sesudah perlakuan menyatakan adanya korelasi sebesar 0,338 (gambar 5). Pemberian probiotik meningkatkan berat badan dari ayam pedaging, juga dikemukakan oleh Arun [1].

Gambar 5. Uji korelasi

		Correlations				
		Sesudah	M5	M4	Selisih	Konsentrasi
Sesudah	Pearson Correlation	1	.338	.218	.663*	.109
	Sig. (2-tailed)		.282	.497	.019	.737
	N	12	12	12	12	12
M5	Pearson Correlation	.338	1	.594*	.137	-.212
	Sig. (2-tailed)	.282		.042	.671	.509
	N	12	12	12	12	12
M4	Pearson Correlation	.218	.594*	1	-.062	-.304
	Sig. (2-tailed)	.497	.042		.848	.337
	N	12	12	12	12	12
Selisih	Pearson Correlation	.663*	.137	-.062	1	.386
	Sig. (2-tailed)	.019	.671	.848		.215
	N	12	12	12	12	12
Konsentrasi	Pearson Correlation	.109	-.212	-.304	.386	1
	Sig. (2-tailed)	.737	.509	.337	.215	
	N	12	12	12	12	12

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi suspensi *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus salivarius* yang dapat menurunkan jumlah bakteri patogen (*E. coli*) sebesar 68,13 % dari populasi awal adalah konsentrasi 15 %. Sedangkan konsentrasi terbaik untuk penambahan berat badan ayam pedaging adalah

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Arun, K., dkk., 2006. Dietary Supplementation of *Lactobacillus Sporogenes* on Performance and Serum Biochemico-Lipid Profile of Broiler Chicken. *The Journal of Poultry Science*, 43:235-240
- [2] Hoover, D. G. 2000. Microorganism and Their Products in the Preservation of Foods. In : B.M. Lund, T.C. Baird-Parker, G.W. Gould (Eds). *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Aspen Publisher, Maryland
- [3] Husmaini. 2009. Isolation and identification of lactic acid bacteria from waste processing virgin coconut oil with the Biolog Microstation. *International Seminar and Workshop Biodiversity, Biotechnology and Crop Production*. Padang, 17-18
- [4] Kalsum Umi, Osfar Sjoftan dan Tri Ardyati. 2008. The Growth of *Lactobacillus Salivarius* Isolated From Quail Intestine In Rice Bran Medium.
- [5] Laily. 2008. Roles of Probiotics and Prebiotics in Colon Cancer Prevention: Postulated Mechanisms and In-vivo Evidence. *Int. J. Mol. Sci.* 9(5) : 854-863.
- [6] Langhout, P. 2000. New Additives for broiler chicken. *Feed Mix*. *The International Journal on feed, Nutrition and Technology* 9(6):24- 27.
- [7] Ray, B. and Sandine, W. E. 2000 Acetic, propionic, and lactic acids of starter culture bacteria as biopreservatives, in Ray, B. and Daeschel, M. (eds). *Food bio preservatives of biological origin*. CRC

- press, Inc. Boca Raton, Florida: 103-136.
- [8] Sujaya, I N., Y. Ramona, N.P. Widarini, N.P. Suariani, N.M.U. Dwipayanti, K.A. Nocianitri dan N.W. Nursini (2010). 2009. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. *J. Vet.* 9 (2) : 52 – 59.
- [9] Tabbu, C. R. 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya-vol 1. Penerbit Kasinus. Yogyakarta.
- [10] Utomo.1999. Teknologi pakan hijauan. Jurusan Nutrisi Dan Makanan Ternak. Hand out. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- [11] Vernazza, C.L., B.A. Rabiou, and G.R. Gibson. 2006. Human Colonic Microbiology and the Role of Dietary Intervention: Introduction to Prebiotics. *Prebiotics: Development and Application.* John Wiley & Sons, Ltd