

KETAHANAN BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL ISOLASI DARI FESES BROILER TERHADAP KONDISI SALURAN PENCERNAAN BROILER

(The Resistance of Lactic Acid Bacteria Isolated From the Faeces of Broiler chicken towards the Conditions of the Broiler Digestive Tract)

A. Mujnisa¹⁾, Laily A. Rotib¹⁾, Natsir Djide²⁾, Asmuddin Natsir¹⁾

¹⁾Staf Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin

²⁾Staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Jl.Perintis Kemerdekaan Km 10 Tamalanrea Makassar, Tlp. (0411587217)

e-mail: a.mujnisae@yahoo.co.id

ABSTRACT

This research was conducted to determine the resistance degree of lactic acid bacteria (LAB) isolated from the faeces of broilers towards various intestinal conditions, in order to select a lactic acid bacteria to be used as prospective probiotic. Ten types of LAB bacteria (M1, M2, M3, M4, M5, M7, M8, M23, M26, and M28) isolated from the faeces of broiler chicken were subjected to pH₂, pH₃, and pH₄; to 3% bile salt and to the temperatures of 30°C, 37°C and 41°C. The results of the research showed that all LAB isolates experienced the highest colony reductions at pH₂, which was around 3.2-5.5 log units/ml. The reduction of colony numbers at pH₃ was approximately 1.8-3.1 log unit/ml, and the reduction at pH₄ was around 1.0 - 2.5 log unit/ml. All the LAB isolates experienced a decrease of 0.5 log unit/ml to 1.6 log unit/ml in colony numbers after bile salt exposure. The reduction of colony numbers of ten LAB isolates at the temperatures of 30°C, 37°C and 41°C was 0.6 - 1.4 log unit/ml ; 0.1 - 0.5 log unit/ml and 0.7 - 1.4 log unit/ml, respectively. None of the ten isolates possess all of the expected characteristic, however based on its more superior ability to block the pathogenic micro-organism as well as its ability to survive in simulated gastro intestinal tract conditions, M1 was selected as prospective probiotic.

Key words: Lactic acid bacteria, Faecal broiler, Digestive tract

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan beberapa isolat bakteri asam laktat (BAL) hasil isolasi dari feses broiler pada beberapa kondisi saluran usus, untuk dijadikan sebagai kandidat probiotik. Sepuluh jenis isolat BAL yang diisolasi dari feses broiler (M1, M2, M3, M4, M5, M7, M8, M23, M26 dan M28) diuji pada pH 2, 3, dan 4; garam empedu 0,3; dan suhu 30, 37 dan 41°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kesepuluh isolat BAL pada pH 2 mengalami penurunan jumlah koloni yang paling tinggi yaitu berkisar antara 3,2- 5,5 unit log/ml, penurunan jumlah koloni pada pH 3 berkisar 1,8 - 3,1 unit log/ml dan pada pH 4 penurunan jumlah koloni berkisar 1,0- 2,5 unit log/ml. Penurunan jumlah koloni kesepuluh isolat BAL terhadap garam empedu berkisar antara 0,5 unit log/ml sampai dengan 1,6 unit log/ml (resisten). Penurunan jumlah koloni kesepuluh isolat BAL pada suhu 30, 37 dan 41 °C masing-

masing berkisar antara 0,6 - 1,4 unit log/ml; 0,1 - 0,5 unit log/ml, dan 0,7 - 1,4 unit log/ml. Karakteristik probiotik tidak semua berada pada satu jenis isolat, sehingga isolat BAL M1 sebagai isolat terpilih sebagai probiotik berdasarkan karakteristik penghambatan terhadap mikroorganisme patogen yang lebih baik dibanding isolat lainnya, serta mampu bertahan hidup pada simulasi kondisi saluran pencernaan sehingga berpotensi dijadikan sebagai kandidat probiotik.

Kata kunci : Bakteri asam laktat, Feses broiler, Saluran pencernaan

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) telah lama digunakan sebagai probiotik, termasuk didalamnya jenis *Lactobacillus bulgaricus*, *L. Acidophilus*, *L. Sporogenes*, *L. Casei*, *L.plantarum*, dan *Streptococcus* (Venkat *et al.*, 2004). Faktor-faktor yang mempengaruhi ketahanan hidup dan pertumbuhan dalam usus digunakan dalam menentukan strain-strain BAL yang berpotensi sebagai probiotik. Menurut Chou dan Weimer (1999), stress bakteri probiotik di mulai dari lambung, dimana bakteri ini harus mampu bertahan terhadap pH yang sangat rendah. Waktu yang dibutuhkan bakteri mulai masuk sampai keluar lambung adalah 90 menit. Setelah bakteri probiotik berhasil melalui lambung, mereka akan memasuki saluran usus bagian atas yang merupakan tempat garam empedu disekresikan. Galur-galur BAL dari spesies yang sama serta diisolasi dari sumber yang sama, memiliki keragaman pada toleransi terhadap garam empedu.

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan BAL sebagai probiotik yang bersumber dari broiler itu sendiri yaitu pada feses broiler. Pemilihan feses broiler sebagai sumber BAL dengan pertimbangan bahwa BAL yang terdapat dalam feses adalah BAL yang mampu bertahan hidup dan menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan di dalam saluran pencernaan, karena salah satu syarat utama probiotik yang baik adalah harus memiliki kemampuan untuk bertahan hidup ketika melalui saluran pencernaan. Berdasarkan hasil penelitian Mujnisa (2012) maka dilakukan penelitian lanjut untuk mengetahui ketahanan isolat BAL tersebut terhadap berbagai kondisi saluran pencernaan.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Pengelolaan Hasil Perikanan Politeknik Negeri Pangkep. Data pada penelitian ini dianalisis secara deskriptif.

Isolat BAL yang diuji pada penelitian ini adalah hasil penelitian isolasi dan karakterisasi oleh Mujnisa (2012) pada feses broiler yang masing-masing diberi simbol isolat M1, M2, M3, M4, M5, M7, M8, M23, M26 dan M28. Isolat BAL tersebut memiliki sifat Gram positif, katalase negatif dan tipe homofermentatif.

Seleksi isolat BAL pada feses broiler pada penelitian ini mencakup; ketahanan terhadap kondisi saluran pencernaan mencakup ketahanan terhadap pH asam

(modifikasi Zavaglia *et al.*, 1998) dilakukan pada pH 2, 3, dan 4, ketahanan terhadap garam empedu (Zavaglia *et al.*, 1998) 0,3%, serta ketahanan terhadap suhu yang mencakup suhu ruang 30°C, suhu tubuh broiler 41°C, dan suhu 37°C sebagai suhu kontrol.

Ketahanan isolat BAL terhadap kondisi saluran pencernaan (pH, garam empedu, dan suhu) dihitung berdasarkan selisih unit log jumlah koloni yang tumbuh setelah 48 jam inkubasi di dalam media perlakuan terhadap unit log jumlah koloni sebelum inkubasi. Semakin kecil selisih unit log, maka semakin tahan kultur BAL yang diuji terhadap pH.

Koloni mikroba yang terbentuk dihitung berdasarkan *Standard Plate Count* (SPC) dengan rumus sebagai berikut :

$$N = \frac{\sum C}{\{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)\} \times (d)}$$

Keterangan :

N = Jumlah koloni, dinyatakan dalam koloni per ml atau per g

$\sum C$ = Jumlah koloni yang berbeda dalam kisaran hitung (25-250 koloni).

n1 = Jumlah cawan pertama yang koloninya dapat dihitung

n2 = Jumlah cawan kedua yang koloninya dapat dihitung

d = Pengenceran pertama yang digunakan

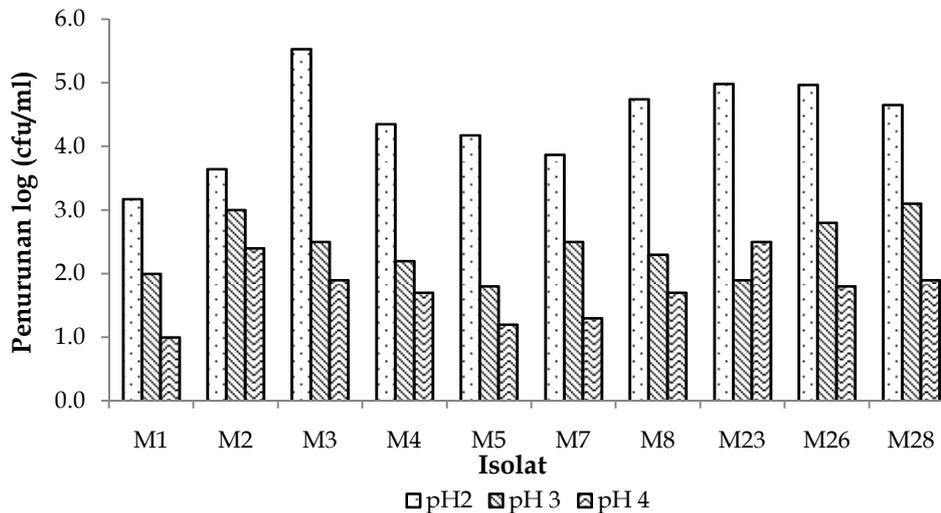
Bahan untuk uji ketahanan terhadap kondisi saluran pencernaan digunakan media MRSB (*deMan Rogosa and Sharp Broth*, Oxoid, England), MRSA (*deMan Rogosa and Sharp Agar*; Oxoid, England), BPW (*Buffer peptone water*; Merck, Germany), HCl 4N, dan garam oxgall 0,3 % (Sigma). Peralatan utama yang autoklaf, inkubator CO₂, timbangan analitik, *refrigerator*, *vortex*, pipet mikro, bunsen, pH meter, pinset, stomecher, tabung elemeyer 50 ml tutup asa, *loop inoculation* (ose) dan cabinet laminar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ketahanan terhadap pH asam

Menurut Jacobsen *et al.*, (1999), semua bakteri yang berhasil bertahan pada kondisi pH rendah dinyatakan bersifat tahan atau resisten terhadap asam. Hasil penelitian pada Gambar 1 memperlihatkan kesepuluh isolat BAL yang diisolasi dari sumber yang sama yaitu dari feses broiler, memiliki ketahanan berbeda terhadap pH 2, pH 3, dan pH 4 selama 24 jam. Secara umum, Isolat BAL pada pH 2 mengalami penurunan jumlah koloni yang paling tinggi yaitu berkisar antara 3,2 unit log/ml sampai dengan 5,5 unit log/ml, diikuti penurunan jumlah koloni pada pH 3 berkisar 1,8 unit log/ml sampai dengan 3,1 unit log/ml dan pada pH 4 penurunan jumlah koloni berkisar 1,0 unit log/ml sampai dengan 2,5 unit log/ml.

Isolat M1 memiliki ketahanan terhadap pH asam yang lebih baik dibanding dengan isolat lainnya yang ditunjukkan dengan penurunan jumlah koloni (log/ml) yang lebih rendah dibanding isolat lainnya, meskipun pada kondisi pH 3 ketahanan isolat M1 menduduki peringkat ke 3 setelah isolat M5 dan isolat M23, namun penurunan log yang terjadi masih dalam batas resisten terhadap kondisi pH asam.



Gambar 1. Ketahanan Isolat BAL terhadap pH 2, 3, dan 4 selama 24 jam

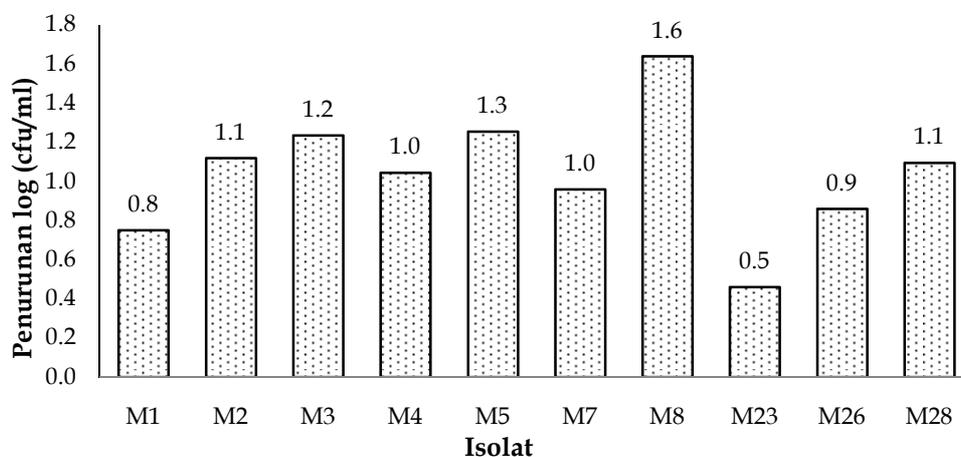
Meskipun terjadi aktivitas penghambatan pertumbuhan terhadap kesepuluh isolat BAL pada pH asam yang ditandai penurunan jumlah koloni, namun semua isolat masih mampu hidup pada pH 2, pH 3, dan pH 4 sehingga masih terdapat sel yang lolos hidup pada saat melewati proventrikulus bila diberikan bersama-sama dengan pakan, karena pH saluran pencernaan unggas bagian proventrikulus berkisar 2,83 - 3,01 (Sjofjan, 2003).

Ketahanan terhadap garam empedu

Hasil pengujian ketahanan isolat terhadap konsentrasi garam empedu (*oxgall*) 0,3% (Gambar 2) memperlihatkan adanya penghambatan pertumbuhan kesepuluh isolat BAL oleh garam empedu. Penurunan jumlah koloni kesepuluh isolat BAL terhadap garam empedu berkisar antara 0,5 unit log/ml sampai dengan 1,6 unit log/ml. Meskipun terjadi penghambatan garam empedu terhadap pertumbuhan BAL tetapi dari hasil penelitian terlihat bahwa kesepuluh isolat BAL masih mampu bertahan dan tumbuh dalam medium yang mengandung garam empedu sampai konsentrasi 0,3%, ditandai dengan rata-rata penurunan jumlah koloni yang lebih kecil.

Menurut Zavaglia *et al.*, (1998), konsentrasi garam empedu 0,3% merupakan konsentrasi yang cukup tinggi untuk menyeleksi galur yang resisten terhadap garam empedu, dan semua mikroba yang berhasil hidup setelah ditumbuhkan dalam MRSA (*deMan Rogosa Sharpe Agar*) yang ditambah 0,3% *Oxgall*, dinyatakan bersifat tahan terhadap garam empedu. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat BAL dari feses broiler ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai probiotik. Namun, dari kesepuluh isolat tersebut, isolat M1, M23 dan M26 memiliki ketahanan terhadap garam empedu 0,3%

yang lebih baik dibanding isolat lainnya, hal ini ditunjukkan dengan penurunan jumlah koloni kurang dari 1 unit log/ml (paling resisten).



Gambar 2. Ketahanan isolat BAL terhadap garam empedu

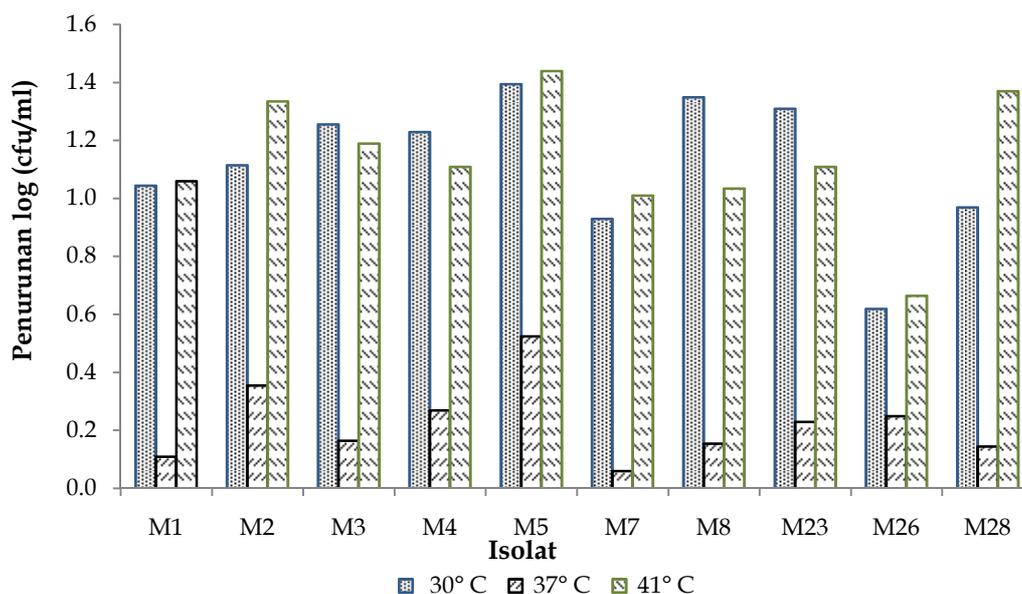
Mekanisme penghambatan garam empedu terhadap pertumbuhan bakteri disebabkan karena garam empedu memiliki struktur amphipatik sehingga mampu melarutkan atau memecah semua substansi sel yang mengandung lipid. Dinding sel bakteri dan membran sel bakteri mengandung lipid sehingga masuknya garam empedu ke dalam dinding sel dan membran sel akan menyebabkan dinding sel dan membran sel menjadi rusak dan kehilangan fungsinya sebagai pelindung bakteri dan filter. Apabila bakteri mengalami kerusakan atau kehilangan fungsi pada dinding selnya, maka akan mengakibatkan bakteri cenderung tidak mampu bertahan terhadap tekanan osmotik sehingga menyebabkan terjadinya lisis atau pengeluaran isi sel yang berakibat kematian sel (Hill, 1995; Mourad dan Eddine, 2006).

Ketahanan terhadap suhu

Ketahanan BAL pada suhu suhu ruang 30°C, suhu tubuh broiler 41°C dan suhu 37°C (kontrol) dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3 memperlihatkan kesepuluh isolat BAL yang diisolasi dari sumber yang sama mempunyai ketahanan yang berbeda terhadap suhu, ditandai dengan penurunan jumlah koloni yang berbeda. Penurunan jumlah koloni kesepuluh isolat BAL pada suhu 30 °C, 37 °C dan 41 °C masing-masing berkisar antara 0,6 - 1,4 unit log/ml; 0,1 - 0,5 unit log/ml, dan 0,7 - 1,4 unit log/ml. Meskipun terjadi penurunan jumlah koloni, namun semua isolat mampu bertahan terhadap suhu perlakuan.

Rata-rata isolat BAL mampu tumbuh paling baik pada suhu 37°C yang ditandai dengan penurunan log yang terendah, diikuti suhu 30°C dan 41°C. Berdasarkan suhu pertumbuhannya maka BAL yang diisolasi dari feses broiler ini tergolong bakteri mesofilik. Menurut Patterson (1992) bahwa bakteri mesofilik tumbuh optimum pada suhu 20°C - 40°C dengan suhu minimum pertumbuhan 10 °C - 20°C dan suhu maksimum 40°C - 45°C.



Gambar 3. Ketahanan Isolat BAL terhadap suhu 30°C, 37°C dan 41°C selama 24 jam

Tabel 1. Urutan ranking isolat BAL feses broiler berdasarkan masing-masing sifat yang diuji.

Ranking	Sifat Antimikroba		pH asam (Δ log)			Garam empedu (Δ log)	Suhu (Δ log)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i>	pH 2	pH3	pH4		30° C	37° C	41° C
1	M1	M1	M1	M5	M1	M23	M26	M1 , M7, M28	M26
2	M7, M23	M2	M2	M23	M5	M1	M7	M3, M8, M23	M7, M8
3	M5, M28	M28	M7	M1	M7	M26	M1 , M28	M4, M26	M1 , M4, 23
4	M2	M4, M8	M5	M4	M4, M8	M4, M7	M26	M2	M3
5	M4, M8, M26	M5, M7, M26	M4	M8	M26	M2, M28	M4	M5	M2
6	M3	M23	M8, M28	M3, M7	M3, 28	M3	M3, M23		M5, M28
7		M3	M23, 26	M26	M2	M5	M5, M8		
8			M3	M2	M23	M8			
9				M28					

Dari hasil uji BAL terhadap ketahanan pH asam, ketahanan terhadap suhu, dan ketahanan terhadap garam empedu terlihat bahwa tidak semua karakteristik probiotik BAL berada pada satu jenis isolat (Tabel 1), sehingga dalam penentuan pemilihan isolat yang berpotensi sebagai probiotik diperlukan beberapa pertimbangan. Berpedoman pada Tabel 1, maka isolat M1 sebagai isolat terpilih sebagai probiotik berdasarkan karakteristik penghambatan terhadap mikroorganisme patogen dan karakteristik pertumbuhan pada media MRSB pada berbagai kondisi saluran pencernaan.

KESIMPULAN

Isolat bakteri asam laktat M1 (BAL M1) merupakan isolat terpilih sebagai kandidat probiotik berdasarkan karakteristik penghambatan terhadap mikroorganisme patogen yang lebih baik dibanding isolat lainnya, serta mampu bertahan hidup pada simulasi kondisi saluran pencernaan

Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk melihat species BAL M1 dan aplikasi penggunaan isolat BAL M1 dalam ransum broiler sebagai imbuhan pakan pengganti antibiotika sintetik terhadap penampilan produksi dan kualitas daging broiler.

DAFTAR PUSTAKA

- Chou, L. S, and B. Weimer. 1999. Isolation and characterization of acid and bile tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. J. Dairy Sci., 62 : 23-31.
- Hill, M. J. 1995. Role of Gut Bacteria in Human Toxicology and Pharmacology. Taylor, New York.
- Jacobsen, C. N., V. R. Nielsen, A. E. Hayford, P. L. Moller, K. F. Michaelsen, A. P. Erregard, B. Sandstrom, M. Tvede, and M. Jakobsen. 1999. Screening of probiotic activities of forty seven strains of *Lactobacillus spp.* by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in human. J. App. Environ. Microbiol., 65: 4949-4956.
- Mourad, K, and K. N. Eddine. 2006. In vitro preselection criteria for probiotic *Lactobacillus plantarum* strains of fermented Olives origin. J. Probio. Prebio., 1(1): 27-32.
- Mujnisa, A. 2012. Potensi Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi dari Feses Broiler sebagai Imbuhan Pakan terhadap Produktivitas Broiler. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Patterson, J. A. 1992. Encyclopedia of Microbiology. Academic Press, London.
- Sjofjan, O. 2003. Kajian Probiotik AB (*Aspergillus sp* dan *Bacillus spp*) sebagai Imbuhan Ransum dan Implikasi Efeknya terhadap Mikroflora Usus serta Penampilan Produksi Ayam Petelur. Disertasi Program Pasca Sarjana. Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Venkat, H. K., P. S. Narottam, and K. K. Jain. 2004. Effect of feeding *Lactobacillus* based probiotics on the gut microflora, growth and survival of postlarvae of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Aquac.Res., 35: 501-507.
- Zavaglia, A. G., G. Kociubinski., P. Perez, and G. De Antoni. 1998. Isolation and characterization of *Bifidobacterium* strains for probiotic formulation. J. Food Protect., 61(7):865-873.