

SKRIPSI

**UJI DAYA HAMBAT ANTIBAKTERI *BLACK GARLIC*
SEBAGAI ALTERNATIF *FEED ADDITIVE* PADA
PAKAN UNGGAS**

Disusun dan Diajukan oleh

**RISKA SRI WAHYUNI HARIS
I111 16 573**



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)

**UJI DAYA HAMBAT ANTIBAKTERI *BLACK GARLIC* SEBAGAI
ALTERNATIF *FEED ADDITIVE* PADA
PAKAN UNGGAS**

Disusun dan diajukan oleh

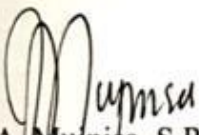
RISKA SRI WAHYUNI HARIS
1111 16 573


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian
Studi Program Sarjana Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas
Hasanuddin
Pada tanggal 05 Maret 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping


Dr. A. Murnisa, S.Pt., M.P
NIP. 197303271997022001


Jamilah, S.Pt., M.Si
NIP. 198810102014042001

Ketua Program Studi,



Dr. Ir. Muh. Ridwan, S.Pt., M.Si. IPU
NIP. 197606162000031001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Riska Sri Wahyuni Haris
NIM : I111 16 573
Program Studi : Peternakan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

(Uji Daya Hambat Antibakteri *Black Garlic* sebagai Alternatif *Feed Additive* pada Pakan Unggas)

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi/tesis/disertasi yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi/tesis/disertasi ini hasil karya orang lain , maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, 05 Maret 2021

Menyatakan

A20AJX053757982

Riska Sri Wahyuni Haris

ABSTRAK

Riska Sri Wahyuni Haris. I11116573. Uji Daya Hambat Antibakteri *Black Garlic* sebagai Alternatif *Feed Additive* pada Pakan Unggas. Dibawah Bimbingan **A. Mujnisa dan Jamilah.**

Feed additive pada pakan seperti *black garlic* yang memiliki kandungan *allicin* yang dapat meningkatkan nilai guna pakan dan mencegah penyakit yang disebabkan bakteri patogen pada *broiler*. Penelitian bertujuan untuk mengetahui daya hambat antibakteri *black garlic* dengan pemberian konsentrasi berbeda yang ditambahkan pada pakan dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan penyakit pada *broiler*. Penelitian menggunakan metode penelitian RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan perlakuan P0 = Pakan Kontrol (tanpa *black garlic*), P1 = Pakan + Pasta *Black garlic* 1%, P2 = Pakan + Pasta *Black garlic* 2,5% dan P3 = Pakan + Pasta *Black garlic* 4%. Hasil penelitian daya hambat antibakteri *black garlic* pada pakan terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antara P1 dan P2. Sedangkan perlakuan P2 tidak berbeda nyata terhadap perlakuan P3, hal ini disebabkan karena adanya *allicin* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Daya hambat antibakteri *Black Garlic* pada pakan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa penggunaan *black garlic* sebagai *feed additive* berpengaruh nyata ($P < 0,05$) pada setiap perlakuan, hal ini disebabkan dikarenakan adanya zat bioaktif berupa minyak atsiri yang terkandung dalam *black garlic* yang berperan sebagai antibakteri. Perbedaan yang tidak berpengaruh nyata dengan penggunaan *black garlic* konsentrasi 2,5% memberikan nilai fungsional yang efektif dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci : *Black garlic, feed additive, Escherichia coli, Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Riska Sri Wahyuni Haris. I11116573. Black Garlic Antibacterial Inhibition Test as an Alternative to Feed Additive in Poultry Feed. Supervised by **A. Mujnisa** and **Jamilah.**

Feed additives in feed such as black garlic that has *allicin* content that can increase the value of feed use and prevent diseases caused by pathogenic bacteria in broiler. Research aims to find out the antibacterial power of black garlic by giving different concentrations added to feed can inhibit bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* that can cause disease in broiler. The study used RAL research method (Complete Random Design) with treatment P0 = Control Feed (without black garlic), P1 = Feed + Pasta Black garlic 1%, P2 = Feed + Pasta Black garlic 2.5% and P3 = Feed + Pasta Black garlic 4%. The results of the study of antibacterial power of black garlic in feed against *Escherichia coli* bacteria showed a noticeable difference ($P < 0.05$) between P1 and P2. While the treatment of P2 does not differ significantly from the treatment of P3, this is due to the presence of allicin that can inhibit the growth of bacteria. The antibatery of black garlic in feed against *Staphylococcus aureus* bacteria shows that the use of black garlic as a feed additive has a real effect ($P < 0.05$) on each treatment, this is due to the presence of bioactive substances in the form of essential oils contained in black garlic that acts as an antibacterial. Differences that had no noticeable effect with the use of black garlic concentration of 2.5% provide effective functional value in inhibiting the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

Keywords: *Black garlic, feed additive, Escherichia coli, Staphylococcus aureus*

KATA PENGANTAR



Puji syukur kehadiran Allah *Subhanahu Wata'ala* yang telah melimpahkan seluruh rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan Makalah Seminar Usulan Penelitian dengan judul “Uji Daya Hambat Antibakteri *Black Garlic* sebagai Alternatif *Feed Additive* pada Pakan Unggas” Shalawat serta salam juga tak lupa kami junjungkan kepada Nabi Muhammad *Shallallahu Alaihi Wasallam* sebagai suri tauladan bagi umatnya.

Makalah ini merupakan salah satu syarat kelulusan pada Mata Kuliah Seminar Usulan Penelitian (Skripsi) Nutrisi dan Makanan Ternak di Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Selesainya makalah ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang tak terhingga kepada:

1. Abdul Haris Haiyya dan Hj. Ramliah Edy selaku Orang Tua yang senantiasa mendidik dan mendoakan penulis hingga sampai saat ini.
2. Dr. A. Mujnisa, S. Pt., MP dan Jamilah, S. Pt., M. Si selaku Pembimbing Skripsi yang banyak memberi bantuan, pengarahan, nasehat, bimbingan, serta koreksi/kritikan yang mendukung dalam menyusun makalah ini.
3. Vidyahwaty Tenrisanna, S.Pt, M.Ec, Ph.D selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan banyak bimbingan dan masukan kepada penulis.
4. Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc., sebagai Dekan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, beserta jajarannya dan juga kepada dosen-dosen pengajar dan staf Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.

5. Sahabat-sahabat yang senantiasa membantu dan menyemangati penulis Abdan Baso, Lisa, Radiah, Dina, Aurelya, Caca, Hasnia, Mutia, Dina, Rina, Miftah, dan Nelar.
6. Kakak-kakak yang senantiasa mengarahkan dan membimbing dalam penelitian Khusnul Khatimah, S.Pt., Meygi C. Putri Ilahude, S.Pt., St. Rahma, S.Pt., Ismah Ulfiyah Azis, S.Pt., Tilawati, S.Pt., dan Muhammad Syahrul, SE.
7. Teman-teman Tim Asisten Ilmu Bahan Pakan serta Tim Asisten Ransum Unggas/Non Ruminansia atas segala bantuan dan dukungannya.
8. Teman-teman BOSS 16 dan Family D yang telah banyak membantu dan tidak bisa disebutkan namanya satu-persatu dalam penyelesaian makalah ini.
9. Lembaga tercinta HUMANIKA UNHAS, khususnya teman-teman pengurus HUMANIKA UNHAS periode 2018/2019 yang senantiasa membantu, memberikan keceriaan, dan bekerja sama dengan baik selama masa perkuliahan.
10. Teman-teman KKN Posko Lampoko Kec. Barobbo: Ocang, Risma, Sakinah, Reza, Mei, Hulo, Nurma, dan Zul yang telah mengajarkan arti kekeluargaan.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu, terima kasih atas bantuannya.

Semoga segala bentuk apresiasi yang telah diberikan kepada penulis mendapat imbalan yang layak dari Allah *Subhanahu Wata'ala*. Penulis menyadari bahwa makalah ini masih banyak kekurangan dan kelemahan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran ataupun kritikan yang bersifat konstruktif dari pembaca demi mencapai penyempurnaan makalah ini.

Makassar, 02 Maret 2021


Riska Sri Wahyuni Haris

DAFTAR ISI

	Halaman
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xi
Daftar Lampiran	xii
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	3
<i>Feed Additive</i> Untuk Unggas.....	3
<i>Black Garlic</i>	5
Potensi <i>Black Garlic</i> Sebagai <i>Feed Additive</i>	8
<i>Escherichia coli</i>	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	13
Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	15
Metode Uji Bakteri	17
Hipotesis	18
METODE PENELITIAN	19
Waktu dan Tempat Penelitian	19
Materi Penelitian	19
Rancangan Penelitian	19
Prosedur Penelitian	20
Parameter yang diukur	22
Analisis Data	23

HASIL DAN PEMBAHASAN	25
Daya Hambat <i>Black Garlic</i> terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	25
Daya Hambat <i>Black Garlic</i> terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	27
KESIMPULAN DAN SARAN	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	40
RIWAYAT HIDUP	45

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Perbandingan kandungan nutrisi bawang putih dengan <i>black garlic</i>	8
2. Kategori diameter zona hambat	18
3. Komposisi zat nutrisi penyusun ransum	21
4. Susunan bahan pakan dan kandungan zat nutrisi ransum fase pemeliharaan <i>grower</i>	21
5. Rerata Diameter Daya Hambat Antibakteri <i>Black Garlic</i> pada Pakan terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	25
6. Rerata Diameter Daya Hambat Antibakteri <i>Black Garlic</i> pada Pakan terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	27

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Bawang putih dengan proses fermentasi	7
2. <i>Black garlic</i>	9
3. Bakteri <i>Escherchia coli</i>	11
4. Keberadaan bakteri pada saluran pencernaan	13
5. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
6. Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Negatif Pengukuran zona hambat	16
7. Pengukuran Zona Hambat.....	23
8. Hasil Zona Hambat Bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	29

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Hasil Perhitungan Analisis Sidik Ragam Diameter Daya Hambat Antibakteri <i>Black Garlic</i> pada Pakan terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	40
2. Hasil Analisis Statistik (Anova) Daya Hambat Antibakteri <i>Black Garlic</i> pada Pakan terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	40
3. Uji Duncan Daya Hambat Antibakteri <i>Black Garlic</i> pada Pakan terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i>	40
4. Hasil Perhitungan Analisis Sidik Ragam Diameter Daya Hambat Antibakteri <i>Black Garlic</i> pada Pakan terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	41
5. Hasil Analisis Statistik (Anova) Daya Hambat Antibakteri <i>Black Garlic</i> pada Pakan terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	41
6. Uji Duncan Daya Hambat Antibakteri <i>Black Garlic</i> pada Pakan terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	41
7. Dokumentasi Penelitian	42

PENDAHULUAN

Sektor perunggasan, terutama ayam ras pedaging komersial (*broiler*) masih menjadi prioritas utama untuk memenuhi kebutuhan protein hewan masyarakat. Pemeliharaan *broiler* tidak mudah dikarenakan *broiler* cenderung rentan terhadap serangan penyakit. Penyebab timbulnya serangan penyakit dikarenakan populasi bakteri tidak dapat ditolerir oleh *broiler*, populasi bakteri dapat dihambat dengan penambahan *feed additive* pada pakan. *Feed additive* dapat berupa: enzim, antibiotik, probiotik, prebiotik, sinbiotik, asam organik, dan fitobiotik. Fitobiotik merupakan tambahan pakan alami untuk ternak yang berasal dari tanaman (Manjaniq, 2012). Fitobiotik alami yang dapat digunakan salah satunya ialah bawang putih.

Bawang putih umumnya banyak digunakan sebagai *feed additive* pada pakan *broiler* karena kandungan zat bioaktifnya mampu berperan sebagai antibakteri. Zat bioaktif yang berperan sebagai antibakteri dalam bawang putih adalah *allicin* (Purwatiningsih dkk., 2019). Selain itu kandungan senyawa aktif lainnya yang terkandung di dalam bawang putih adalah minyak atsiri, alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid (Soraya dkk., 2015). Efisiensi penggunaan bawang putih perlu dikaji untuk meningkatkan kualitas kandungannya, hal ini dikarenakan ekstrak bawang putih memiliki kelemahan yaitu tidak stabilnya senyawa *allicin* yang terkandung didalamnya. Bawang putih perlu mendapatkan perlakuan terlebih dahulu melalui fermentasi atau pemanasan pada temperature dan kelembaban tertentu untuk mempertahankan kandungannya (Sung *et.al.*, 2014). *Black garlic* merupakan salah satu modifikasi teknik pengolahan bawang putih dengan cara

pemanasan pada waktu dan suhu tertentu sehingga dapat meningkatkan kandungan bioaktif bawang putih.

Senyawa *Allisin* yang terkandung dalam *black garlic* lebih tinggi lima kali lipat bila dibandingkan dengan bawang putih (Choi *et.al.*, 2008). *Allisin* yang terdapat pada *black garlic* dapat menghambat bakteri patogen, sehingga ransum yang dikonsumsi dapat dicerna dan diserap dengan lebih baik (Berliana dkk., 2020). Penambahan *black garlic* dalam ransum berarti menambah jumlah *S-allylcysteine* yang merupakan komponen utama belerang yang mengandung asam amino sebesar 5-6 kali lebih tinggi dibanding bawang putih segar (Bae *et.al.*, 2012).

Beberapa penelitian mengenai penggunaan *black garlic* hingga konsentrasi pemberian 2%, 3%, 4% dan 5% dapat ditoleransi oleh ayam pedaging, peningkatan bobot relatif daging dada dengan semakin tingginya level penambahan *black garlic* dalam ransum sehingga meningkatkan penyerapan nutrisi sehingga mampu memperbaiki bobot relatif daging dada serta semakin meningkatnya konsumsi ransum akan semakin tinggi pula asupan protein (Berliana dkk., 2020). Aini dan Shovitri (2018) memanfaatkan *black garlic* sebagai antibakteri memperlihatkan hasil bahwa dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Penelitian bertujuan untuk mengetahui daya hambat antibakteri *Black garlic* dengan pemberian konsentrasi berbeda yang ditambahkan pada pakan dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan penyakit pada ayam pedaging (*broiler*). Sehingga diharapkan pada penelitian ini dapat menjadi sumber informasi mengenai potensi penggunaan *Black garlic* sebagai *feed additive* pada pakan *broiler*.

TINJAUAN PUSTAKA

Feed Additive untuk Unggas

Pakan yang baik mempunyai kandungan nutrisi yang sesuai dengan kebutuhan ternak, palabilitas tinggi, pakan tambahan tepat, dan bebas dari cemaran mikroba patogen. Pencampuran bahan asing lain ke dalam bahan baku pakan, baik disengaja maupun tidak sengaja, akan menurunkan kualitas pakan. Tindakan ini juga akan meningkatkan risiko cemaran pada pakan (Ahmad, 2009). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk meningkatkan nilai kegunaan pakan adalah melalui “*feed additive*” (imbuhan pakan) (Akhadiarto, 2010).

Imbuhan pakan atau “*feed additive*” adalah suatu bahan pakan yang ditambahkan ke dalam ransum untuk memenuhi kebutuhan gizi, meningkatkan kualitas, nilai manfaat dan efisiensi konsumsi ransum (Habibah dkk., 2012). Pemberian pakan tambahan (*feed additive*) perlu dilakukan dengan tujuan untuk mencapai upaya efisiensi penggunaan ransum. Pakan tambahan atau *feed additive* sudah sangat umum digunakan dalam industri peternakan modern yang dicampurkan ke dalam ransum yang dapat mempengaruhi efisiensi penggunaan nutrisi. *Feed additive* berfungsi sebagai pemacu pertumbuhan dan meningkatkan efisiensi pakan pada ayam antara lain antibiotik, hormon dan sebagainya. *Feed additive* komersial yang digunakan ini, selain harganya tinggi juga kurang terjamin aspek keamanannya karena adanya residu bahan kimia dan hormon dalam produk pangan. Penggunaan pakan tambahan yang aman digunakan sebagai *feed additive* saat ini berasal dari tanaman yang mengandung antioksidan, antibakteri, dan zat aktif lainnya (Astungkarawati dkk., 2014).

Feed additive dapat digolongkan menjadi dua macam, yaitu *nutritive feed additive* ditambahkan ke dalam ransum untuk melengkapi atau meningkatkan kandungan nutrisi ransum, misalnya suplemen vitamin, mineral, dan asam amino. *Non nutritive feed additive* tidak mempengaruhi kandungan nutrisi ransum, kegunaannya tergantung pada jenisnya, antara lain untuk meningkatkan palatabilitas (pemberi rasa, pewarna), pengawet pakan (antioksidan), penghambat mikroorganisme patogen dan meningkatkan pencernaan nutrisi (antibiotik, probiotik, prebiotik, fitobiotik), anti jamur, membantu pencernaan sehingga meningkatkan pencernaan nutrisi seperti acidifier dan enzim (Wahju, 2004). *Feed additive* merupakan suatu bahan yang dicampurkan ke dalam pakan yang dapat mempengaruhi kesehatan maupun keadaan gizi ternak, meskipun bahan tersebut bukan merupakan zat gizi atau nutrisi (Adams, 2000). *Feed additive* dapat berupa: enzim, antibiotik, probiotik, prebiotik, sinbiotik, asam organik, dan fitobiotik (Manjaniq, 2012).

Fitobiotik adalah tanaman herbal yang memiliki bahan aktif yang dapat dijadikan antibakteri dapat memperbaiki kondisi saluran pencernaan (keseimbangan pH dan mikroflora) dan konversi pakan, meningkatkan pencernaan zat-zat makanan (Ulfah, 2006). Imbuhan pakan fitogenik (sering juga disebut fitobiotik atau botanicals) biasanya didefinisikan sebagai senyawa tambahan yang merupakan hasil dari metabolit sekunder tanaman (baik mengandung senyawa bernilai nutrisi, tidak bernutrisi, ataupun anti-nutrisi) yang dimasukkan ke dalam ransum untuk meningkatkan produktivitas ternak melalui perbaikan sifat pakan, meningkatkan kesehatan saluran pencernaan dengan mengontrol bakteri patogen, meningkatkan kinerja produksi, dan meningkatkan kualitas produk ternak. Imbuhan

pakan fitogenik juga dilaporkan memiliki kemampuan sifat anti-inflamasi, antiseptik, obat penenang, bakterisida, fungisida, antivirus, antioksidan, peningkat palatabilitas ransum, memperbaiki fungsi usus, menstimulasi kekebalan tubuh, menstimulasi sekresi enzim pencernaan dan penyerapan zat nutrisi (Hidayat dan Rahman, 2019).

Imbuan pakan fitogenik potensial digunakan sebagai alternatif pemacu pertumbuhan untuk ternak ayam pedaging karena memiliki kemampuan yang tidak jauh berbeda dengan antibiotik dalam menjaga kesehatan saluran pencernaan ternak unggas, akan tetapi imbuan pakan fitogenik memiliki kelebihan, yaitu tidak menimbulkan efek negatif seperti yang diakibatkan oleh antibiotika (Hashemi *et.al.*, 2008). Mekanisme kerja imbuan pakan fitogenik dilaporkan melalui kemampuannya dalam mengendalikan bakteri patogen potensial dalam usus. Hal menunjukkan bahwa beberapa ekstrak tanaman dilaporkan memiliki sifat antimikroba, antiviral, anticoccidial, fungicidal, dan antioksidan (Hidayat dan Rahman, 2019). Salah satu bahan herbal yang merupakan fitobiotik yaitu bawang putih yang telah dihitamkan (*black garlic*).

Black Garlic

Bawang putih memiliki bau dan rasa yang khas, cara alternatif yang dapat dilakukan untuk menghilangkan sifat khas bawang putih tersebut adalah melalui pengolahan yaitu dengan perlakuan panas (*heat treatment*) yang mampu meningkatkan rasa dan menciptakan kualitas baru dari bawang putih tanpa menghilangkan komponen zat gizi bawang putih mentah yang dikenal dengan nama *black garlic*. *Black garlic* memiliki warna hitam, ringan karena kandungan bahan keringnya rendah dan mempunyai aroma serta rasa yang tidak terlalu menyengat

(*sweet-sour*), hal ini disebabkan karena terjadi transformasi *alliin* menjadi *allicin* sebagai inaktivasi panas *alliinase*. Selama proses pemanasan senyawa *alliin* (asam amino) yang tidak stabil akan dikonversi menjadi senyawa yang lebih stabil yaitu S-Allylcysteine (*Allicin*) (Nelwida dkk., 2019). Kandungan *allicin/thio-sulfinates* bawang putih segar 77 $\mu\text{mol/g}$ sedangkan pada *black garlic* 278 $\mu\text{mol/g}$ (Choi dkk., 2008)

Black Garlic merupakan bawang putih (*Allium sativum L.*) segar yang telah difermentasi dalam jangka waktu tertentu dengan suhu tinggi di bawah kelembaban tinggi. Prosesnya membuat siung bawang putih menjadi gelap, memberi mereka rasa manis, dan mengubah konsistensinya menjadi kenyal dan seperti agar-agar (Kimura *et.al.*, 2016). Pada proses aging tersebut terjadi suatu reaksi yang bernama reaksi *Maillard*. Perubahan warna bawang putih menjadi hitam dikarenakan adanya reaksi *Maillard* dimana kandungan gula dan asam amino membentuk senyawa melanoidin (substansi yang mengubah bawang putih menjadi hitam). Perubahan karakteristik yang terjadi pada proses tersebut adalah perubahan warna bawang putih menjadi hitam, rasa bawang menjadi manis serta bau menyengat pada bawang sudah tidak lagi tercium, hal ini dikarenakan terjadinya penurunan pH dari 6 menjadi 3,8. Selain perubahan warna, reaksi tersebut juga menyebabkan peningkatan beberapa senyawa bioaktif seperti *S-allyl cysteine* (SAC), amino asam, flavonoid, polifenol, dan lainnya (Handayani dkk., 2018).

Pemanasan dengan waktu yang lama dapat menyebabkan kerusakan pada karbohidrat yaitu terjadinya reaksi browning non enzimatis (reaksi *Maillard*) dan karamelisasi. Reaksi *Maillard* terjadi karena adanya reaksi antara gugus amino protein dengan gugus karboksil gula pereduksi yang menghasilkan bahan

berwarna coklat, sedangkan karamelisasi terjadi karena adanya reaksi antara gula dan panas. Hasil pemanasan bawang putih menjadi *black garlic* akan menghasilkan *black garlic* yang berwarna coklat gelap dan rasa manis segar dikarenakan bawang putih mengalami reaksi *Maillard*. Reaksi pencoklatan non enzimatis atau reaksi *Maillard* terjadi karena adanya reaksi antara gula pereduksi dengan gugus amin bebas dari asam amino atau protein (Choi dkk., 2014).



Gambar 1. Bawang putih dalam proses fermentasi (Kimura *et.al.*, 2016)

Menurut Wang dkk., (2012) *black garlic* adalah produk pemanasan dari bawang putih yang dipanaskan/dipanaskan pada suhu 70°C dengan kelembaban relatif 70-80%. Sejalan dengan pendapat Zhang *et.al.*, (2015) yang menyatakan bahwa Jika suhu pemanasan kurang dari 60°C, *black garlic* yang dihasilkan akan memiliki kualitas yang tidak baik, dengan kelembaban tinggi pada permukaan dalam, sedangkan, jika suhu pemanasan lebih dari 70°C maka *black garlic* terlihat keriput dengan kenampakan yang terbakar, tekstur sangat keras dan bau busuk yang menyengat. Selama proses pemanasan berlangsung, zat-zat yang terdapat didalam bawang putih segar tidak akan rusak karena dibungkus dengan menggunakan *aluminium foil* (Lee *et.al.*, 2009). Lama pemanasan bawang putih untuk menghasilkan kandungan nutrisi bawang hitam terbaik adalah pada suhu 60°C

selama 17 hari (Nelwida, 2019). Perbandingan komposisi nutrisi bawang putih dengan *Black garlic* dapat dilihat pada Tabel 1. berikut.

Tabel 1. Perbandingan Kandungan Nutrisi bawang putih dengan *Black garlic*

Kandungan Nutrisi	Bawang Putih*	<i>Black Garlic</i> **
Kadar Air (%)	58,58	64,29
Protein Kasar (%)	6,36	16,78
Lemak Kasar (%)	0,5	4,95
Serat Kasar (%)	2,1	1,50
Abu (%)	3,17	5,91
ME (kkal/kg)	1490	1050

Keterangan : *USDA (2010); **Berliana dkk., (2020).

Potensi *Black Garlic* Sebagai *Feed Additive*

Black garlic memiliki sifat antibakteri lebih kuat sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Saravanan dkk., 2010). *Allisin* yang terkandung dalam *black garlic* dapat menghambat bakteri patogen dan parasit-parasit pencernaan, sehingga ransum yang dikonsumsi dapat dicerna dan diserap dengan lebih baik (Berliana dkk., 2020). Zat bioaktif lainnya yang terkandung pada *black garlic* banyak mengandung flavonoid dan polifenol (Agustina dkk., 2020). Pujiastuti dan Palupi (2018) menyatakan bahwa *black garlic* juga mengandung minyak atsiri yang dapat berfungsi sebagai antibakteri.

Kandungan *allisin* merupakan senyawa organosulfur yang paling banyak dalam bawang putih. Senyawa ini kebanyakan mengandung belerang yang bertanggung jawab atas rasa, aroma, dan sifat-sifat farmakologi bawang putih seperti antibakteri, antijamur, antioksidan, antikanker (Mouliia dkk., 2018). *Allisin* dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif dengan cara menghambat produksi RNA dan sintesis lipid. Penghambatan ini menyebabkan asam amino dan protein tidak dapat diproduksi serta bilayer fosfolipid dari dinding sel tidak dapat

terbentuk, sehingga pertumbuhan dan perkembangan pada bakteri tidak akan terjadi (Saravanan dkk, 2010).

Andualem (2013) menyatakan bahwa mekanisme antibakteri dari *allicin* adalah dengan cara menghambat produksi RNA pada bakteri. Ketika RNA tidak dapat diproduksi, maka sintesis DNA akan ikut terhambat. *Allicin* juga mempengaruhi sintesis lipid pada bakteri, sehingga lapisan fosfolipid pada dinding sel pada bakteri gram positif maupun gram negatif tidak dapat terbentuk dengan benar. Hal inilah yang kemudian menyebabkan bakteri tidak dapat membelah diri dan pertumbuhan bakteri pun terhambat. Menurut Pajan dkk.,(2016), senyawa *allicin* dapat meningkatkan permeabilitas dinding bakteri yang menyebabkan gugus SH (sulfhidril dan disulfide) pada asam amino sistin dan sistein hancur, gugus SH yang hancur dapat menghambat sintesis enzim protease yang merusak membrane sitoplasma pada dinding bakteri.



Gambar 2. *Black Garlic*

Menurut Gulfraz *et.al.*, (2014), flavonoid bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dimiliki bakteri. Senyawa flavonoid ini juga dikenal baik sebagai antioksidan. Flavonoid merupakan turunan senyawa fenol yang dapat

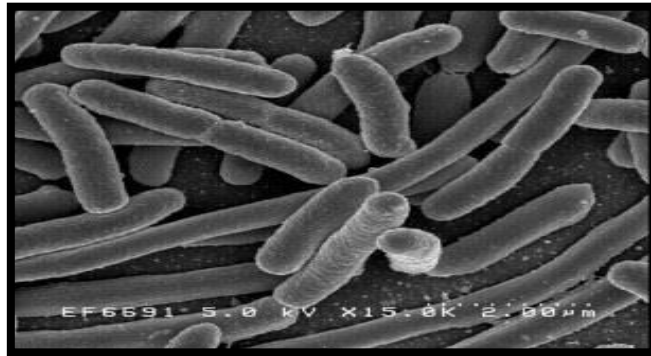
berinteraksi dengan sel bakteri dengan cara adsorpsi yang dalam prosesnya melibatkan ikatan hidrogen. Dalam kadar yang rendah, fenol membentuk kompleks protein dengan ikatan lemah. Yang akan segera terurai dan diikuti oleh penetrasi fenol ke dalam sel, dan menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein. Basjir dkk.,(2012) menambahkan fenol dapat menghambat aktivitas enzim bakteri, yang pada akhirnya akan mengganggu metabolisme serta proses kelangsungan hidup bakteri tersebut. Kandungan zat bioaktif lainnya ialah minyak atsiri yang bekerja sebagai aktivitas antimikroba dengan cara merusak dan mengubah konformasi dinding sel mikroba yang akan berpengaruh pada transpor elektron, ion gradien, translokasi protein, dan kehilangan kontrol kemiosmotik (Greathead, 2003).

Escherichia coli

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri yang dapat bersifat patogen dalam usus dan terdapat hampir diseluruh bagian saluran pencernaan. Sifat bakteriosin pada bahan herbal dapat memberikan efek antagonis terhadap pertumbuhan bakteri patogen sehingga menurunkan pertumbuhan bakteri serta memperbaiki mikroflora dalam usus (Rahma dkk., 2013).

Bakteri *Escherichia Coli* ditemukan pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan diberi nama sesuai dengan nama penemunya. *Escherichia Coli* merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan diameter 0.5 micrometer. Volume sel *Escherichia Coli* berkisar 0.6-0.7 m³ . Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 20-40°C dengan suhu optimumnya pada 37°C dan tergolong bakteri gram negative. Adapun klasifikasi dari bakteri *Escherichia Coli* (Sutiknowati, 2016) :

Domain : Bacteria
Kingdom : Eubacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Order : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : Escherichia
Species : Escherichia coli

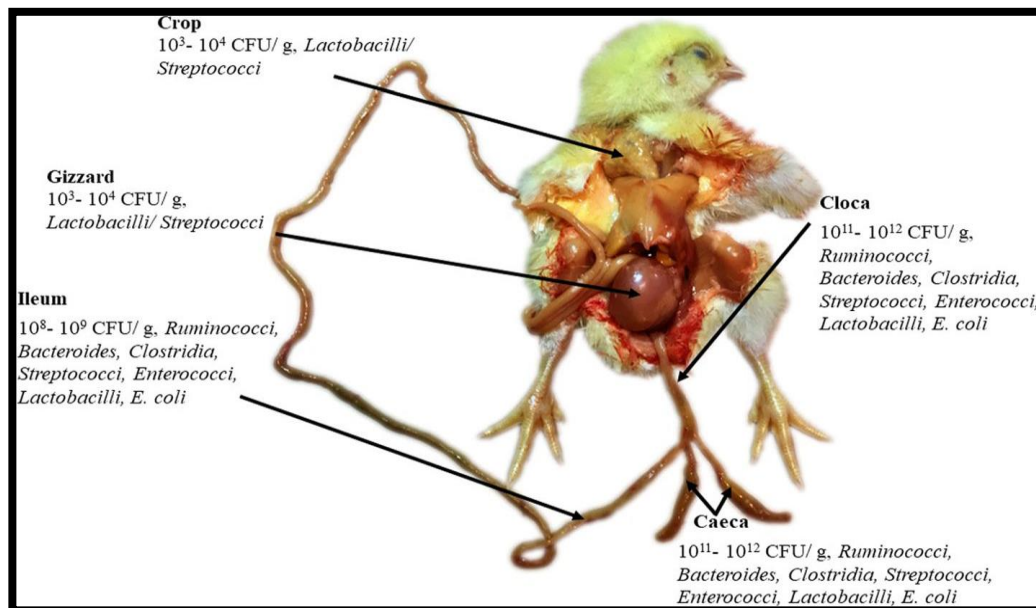


Gambar 3. Bakteri *Escherichia coli* (Sutiknowati, 2016).

Sebagian besar dari *Escherichia coli* berada dalam saluran pencernaan hewan dan manusia sebagai flora normal, namun ada yang bersifat patogen yang menyebabkan penyakit pada manusia dan hewan. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil dan bersifat fakultatif anaerob. *Escherichia coli* membentuk koloni bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata. *Escherichia coli* dikeluarkan dari saluran pencernaan melalui feses sebesar $10^8 - 10^9$ cfu/gram (Bettelheim dkk., 2005).

Saat kondisi normal *Escherichia coli* terdapat di dalam saluran pencernaan ayam. Sekitar 10–15 persen dari seluruh *Escherichia coli* yang ditemukan di dalam usus ayam yang sehat tergolong serotipe patogen. Bagian usus yang paling banyak mengandung kuman tersebut adalah *jejunum*, *ileum* dan *sekum*. Jenis *Escherichia coli* yang terdapat di dalam usus tidak selalu sama dengan jenis yang ditemukan pada

jaringan lain. Sebagai agen penyakit sekunder, *Escherchia coli* sering mengikuti penyakit lain, misalnya pada berbagai penyakit pernafasan dan pencernaan yang menyerang ayam (Tarmudji, 2003). Jumlah bakteri bakteri *Escherchia coli* yang terdapat pada saluran pencernaan *broiler* bagian ileum (10^8 - 10^9 CFU/gr), sekum (10^{11} - 10^{12} CFU/gr), dan kloaka (10^{11} - 10^{12} CFU/gr) (Yadav and Jha, 2019). Hal berikut untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Keberadaan Bakteri pada Saluran Pencernaan (Yadav and Jha, 2019)

Keberadaan *Escherchia coli* dapat menimbulkan infeksi pada saluran pencernaan unggas yang biasa dikenal sebagai kolibasilosis. Kolibasilosis pada unggas umumnya disebabkan oleh *avian pathogenic Escherchia coli (APEC)* sejauh ini, APEC di dominasi tiga serogroup yaitu O1,O2, dan O 78. (Mellata dkk., 2003). Berdasarkan sifat virulensinya, *Escherchia coli* dibedakan menjadi 3 kelompok, yaitu virulensi sedang dan avirulen. Virulensinya dapat ditentukan dari kemampuannya untuk membunuh embrio ayam, waktu yang diperlukan untuk membunuh embrio dan persentase kematian embrio. *Escherchia coli* yang sangat virulen mampu menyebabkan kematian embrio pada hari kedua pasca infeksi

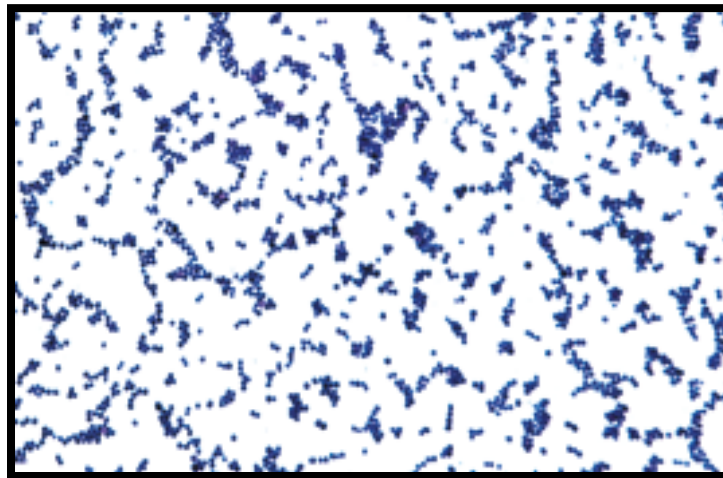
dengan mortalitas di atas 29% *Escherchia coli* dengan virulensi sedang menyebabkan kematian embrio antara 10 dan 29%, sedangkan yang avirulen menyebabkan kematian embrio di bawah 10 persen (Wooley *et.al.*, 2000).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1 mikron, bergerombol menyerupai untaian anggur, gram positif, non motil, tidak membentuk spora, beberapa strain yang langsung diambil dari sampel membentuk semacam kapsul, koloni berwarna kuning emas, hemolisis pada *blood agar*. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 6,5-46°C dan pada pH 4,2 - 9,3. Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen *lipochrom* yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. Pigmen kuning keemasan timbul pada pertumbuhan selama 18-24 jam pada suhu 37° C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C) (Dewi, 2013).

Secara normal bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat di udara, di kulit, dan selaput lendir hewan. Populasi bakteri *Staphylococcus aureus* yang tinggi dapat menimbulkan penyakit di dalam tubuh hewan. Infeksi *Staphylococcus aureus* umumnya disebabkan karena kurangnya pemahaman peternak tentang manajemen pemeliharaan ayam yang benar dan sehat. Infeksi *Staphylococcus aureus* yang menyebabkan *bumble foot* pada ayam. Infeksi *Staphylococcus aureus* yang menyebabkan *bumble foot* akan meningkat apabila peternak menggunakan lantai kandang yang padat, keras, dan lembab (Rahmat dkk., 2016). Menurut Ferianto (2012) klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ialah:

Divisi : *Protophyta*
Kelas : *Schizomycetes*
Ordo : *Eubacteriales*
Famili : *Micrococceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*



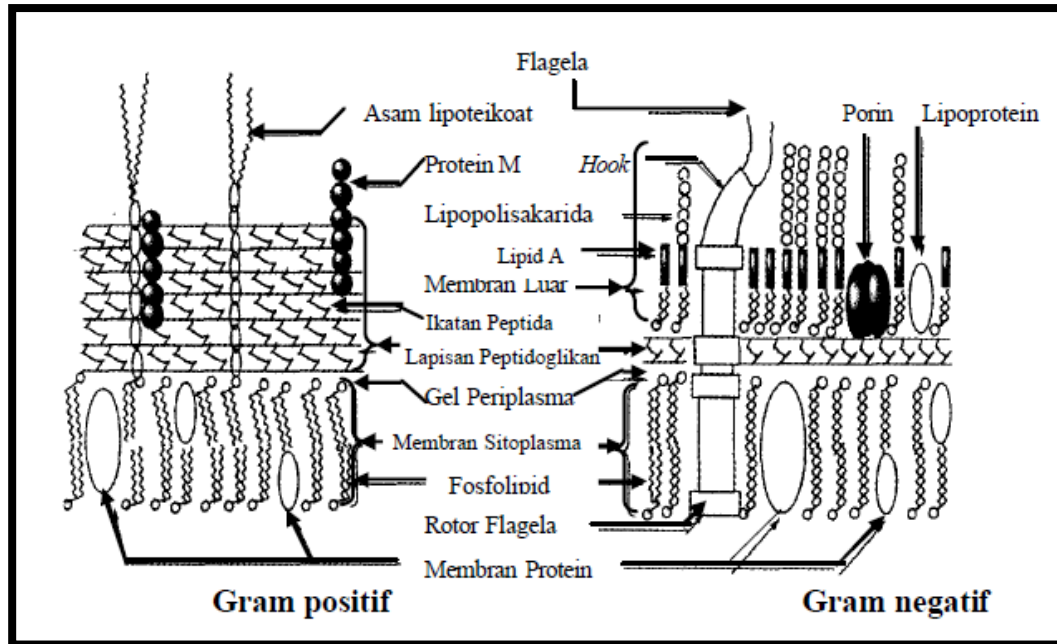
Gambar 5. *Staphylococcus aureus* (Leboffe dan Burton, 2011)

Infeksi serius dari bakteri *Staphylococcus aureus* terjadi ketika resistensi inang melemah karena adanya perubahan dari inang yang memengaruhi imunitasnya. Bengkak sendi yang disebabkan oleh infeksi *Staphylococcus aureus* umumnya terjadi melalui kulit yang robek atau terluka. Kulit yang terluka biasanya terjadi pada telapak kaki disebabkan oleh kandang kawat atau belahan bambu yang tajam, sehingga peradangan sendi terjadi pada telapak kaki (*bumble foot*). Penyakit *bumble foot* dapat dikategorikan ke dalam tiga tahap, yaitu luka pada dampal kaki ayam dan tanda kemerahan timbul dalam beberapa waktu ke depan. Tahap ini bisa diatasi dengan pemberian krim pada kaki ayam. Tahap berikutnya, bagian merah di kaki ayam semakin meluas. Akibatnya, kaki ayam menjadi tidak stabil. Tahap ini bisa diatasi dengan penggunaan antibiotik (Rahmat dkk., 2016).

Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Bakteri merupakan kelompok organisme hidup yang bersel tunggal dan bersifat mikroskopik. Bakteri digolongkan menjadi dua yaitu bakteri menguntungkan dan bakteri merugikan. Bakteri merugikan adalah bakteri yang dapat menimbulkan berbagai macam penyakit (Prasetyo dan Sansoko, 2014). Bakteri Gram positif adalah bakteri yang mempunyai dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tebal. Sedangkan bakteri Gram negatif adalah bakteri yang mempunyai dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tipis (Lestari dan Hartati, 2017). Siswandono (2000) menambahkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang relatif kompleks akan menyebabkan senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.

Bakteri dibagi menjadi bakteri Gram negatif dan Gram positif. Pewarnaan Gram merupakan pewarnaan yang digunakan untuk mengelompokkan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Perbedaan struktur, komposisi dinding sel bakteri dan permeabilitas diantara kedua kelompok dinding sel bakteri menyebabkan perbedaan warna pada bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pewarnaan Gram berdasarkan kemampuan bakteri untuk menahan pewarna primer (kristal ungu) atau kehilangan warna primer dan menerima warna tandingan (safranin). Bakteri Gram positif akan menunjukkan warna ungu sedangkan untuk bakteri Gram negatif akan menunjukkan warna merah (Anuar dkk., 2014).



Gambar 6: Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Negatif (Moat *et.al.*, 2002).

Menurut Napitupulu (2018) bakteri Gram negatif mempunyai sistem membran yang ganda dengan membran plasma bakteri dilindungi membran luar permeabel, bakteri Gram negatif memiliki dinding sel peptidoglikan yang tipis, serta komposisi membran sel tersusun dari kandungan lipid yang tinggi. Sedangkan bakteri Gram positif hanya memiliki membran plasma yang tunggal dengan dikelilingi oleh dinding sel peptidoglikan yang tebal dengan kandungan lipid yang rendah. Menurut Muharini dkk., (2017) bahwa struktur dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* relatif lebih sederhana sehingga senyawa antibakteri mudah masuk ke dalam sel. Berbeda dengan bakteri *Escherichia coli*, dinding sel bakteri relatif lebih kompleks dan berlapis tiga dimana lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa lipopolisakarida, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan sehingga bakteri gram negatif memiliki sifat kurang rentan terhadap beberapa senyawa antibakteri. Menurut Poeloengan dan Andriani (2013) lemak yang terdapat pada dinding sel bakteri gram negatif dapat memengaruhi aktivitas

timohidroquinon sehingga menyebabkan berkurangnya daya hambat yang dihasilkan.

Metode Uji Antibakteri

Aktivitas antibakteri adalah senyawa yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri yang merugikan dan dapat dideteksi dengan pengamatan respon pertumbuhan berbagai populasi mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat kebutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Sikawin dkk., 2018). Metode uji aktivitas antibakteri secara umum diklasifikasikan dalam dua kelompok yaitu difusi dan dilusi.

Prinsip uji dari metode difusi adalah menempatkan cakram kertas yang telah diberikan perlakuan senyawa antibakteri dengan konsentrasi tertentu pada media yang telah ditanami organisme yang akan diuji secara merata. Tingginya konsentrasi dari antimikroba ditentukan oleh difusi dari cakram dan pertumbuhan organisme uji dihambat penyebarannya sepanjang difusi antimikroba (terbentuk zona jernih disekitar cakram), sehingga dapat dideteksi bakteri yang sensitif terhadap antimikroba. Zona bening ini disebut sebagai zona hambat. Semakin besar diameter zona hambat, maka semakin kecil nilai konsentrasi hambat minimum dari suatu senyawa. Sedangkan prinsip uji dari metode dilusi adalah melarutkan senyawa antibakteri pada media agar atau cair yang kemudian ditanami bakteri uji untuk selanjutnya ditentukan konsentrasi terendah dari senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (konsentrasi hambat minimum) setelah

dilakukan inkubasi semalam (Soleha, 2015). Menurut Susanto dkk., (2012), kategori zona hambat dapat diketahui pada Tabel 2, berikut:

Tabel 2. Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter	Kekuatan Hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat Kuat

Hipotesis

Diduga penambahan *black garlic* sebagai *feed additive* pada pakan mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.