

**POTENSI BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL ISOLASI DARI FESES  
BROILER SEBAGAI IMBUHAN PAKAN TERHADAP  
PRODUKTIVITAS BROILER**

*The Potency of Lactic Acid Bacteria Isolated from Broiler Feces  
as Feed Additive on The Productivity of Broiler*

**A.MUJNISA**



**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2012**

**POTENSI BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL ISOLASI DARI FESES  
BROILER SEBAGAI IMBUHAN PAKAN TERHADAP  
PRODUKTIVITAS BROILER**

*The Potency of Lactic Acid Bacteria Isolated from Broiler Feces  
as Feed Additive on The Productivity of Broiler*

**A.MUJNISA**



**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2012**

**POTENSI BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL ISOLASI DARI FESES  
BROILER SEBAGAI IMBUHAN PAKAN TERHADAP  
PRODUKTIVITAS BROILER**

Disertasi  
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi  
Ilmu Pertanian

Disusun dan diajukan oleh

**A.MUJNISA**

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2012**

## DISERTASI

### POTENSI BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL ISOLASI DARI FESES BROILER SEBAGAI IMBUHAN PAKAN TERHADAP PRODUKTIVITAS BROILER

Disusun dan diajukan oleh

A. MUJNISA

Nomor Pokok P0100308018

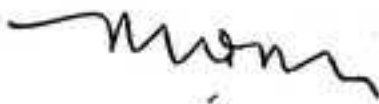
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi  
Pada tanggal 30 Maret 2012  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui  
Komisi Penasihat



Prof. Dr. Hj. Laily Agustina Rotib, M.S.

Promotor



Prof. Dr. H. Natsir Djide, M.S. Apt.

Kopromotor



Prof. Dr. Asmuddin Natsir, M.Sc.

Kopromotor

Ketua Program Studi  
Ilmu Pertanian



Prof. Ir. H.M. Saleh S. Ali, M.Sc. Ph.D.



## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertandatangan dibawah ini

Nama : **A. Mujnisa**  
Nomor Mahasiswa : **P0100308018**  
Program studi : **Ilmu Pertanian**  
Kekhususan : **Peternakan**

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 15 Maret 2012  
Yang menyatakan

A. Mujnisa

## PRAKATA

Alhamdulillah Rabbil'alamin. Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga seluruh rangkaian penyusunan Karya Ilmiah ini terselesaikan dengan baik. Banyak kendala yang dihadapi oleh penulis dalam penyusunan Karya Ilmiah ini. Namun berkat bantuan berbagai pihak, maka karya ilmiah ini dapat terselesaikan. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada Prof.Dr. Hj.Laily Agustina Rotib, MS. Sebagai promotor, Prof.Dr.H.M.Natsir Djide, M.S.Apt. sebagai kopromotor, dan Prof.Dr.Asmuddin Natsir, M.Sc. sebagai kopromotor atas segala kesabaran dan keikhlasan dalam memberikan bimbingan dan saran sehingga pelaksanaan dan penyusunan Karya Ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik. Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan Prof.Dr.Efraim Japin Tandi, M.Sc., Ir. Nasrullah, M.Sc. Ph.D., Prof.Dr.Djoni Prawira Rahardja, M.Sc., dan Prof.Dr.Jasmal A. Syamsu, M.Si., sebagai tim penguji, atas segala saran ataupun masukan dalam penyempurnaan penulisan Karya Ilmiah ini.

Terima kasih yang tulus, kepada Rektor Unhas Prof.Dr.dr. Idrus Paturusi,Sp.Ok., Direktur Program Pascasarjana Unhas Prof. Dr.Ir. Mursalim, Ketua Program studi S3 Sistem-sistem Pertanian Prof.Dr.Ir.H.M. Saleh Ali, M.Sc, Dekan Fakultas Peternakan Prof.Dr.Syamsuddin Hasan, M.Sc., Ketua Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Prof.Dr.Jasmal A. Syamsu, M.Si dan Dr.Syahriani Syahrir, M.Si, yang telah memberikan izin, dorongan, layanan, dan arahan selama menempuh pendidikan. Rasa terima kasih kepada Pimpinan dan staf laboratorium mikrobiologi TPHP politeknik Pertanian Pangkep atas izin dan segala bantuan fasilitas selama penulis melakukan penelitian.

Ungkapan terima kasih khusus penulis sampaikan kedua orang tua, ibu mertua, suami tercinta, dan anak-anakku terkasih, dan seluruh keluarga atas segala kasih sayang, pengorbanan, pengertian, serta doa yang senantiasa menyertai penyelesaian studi. Tak lupa penulis sampaikan terima kasih kepada semua pihak yang tidak sempat disebut satu persatu. Akhirnya, atas segala bantuan dan dukungan dari semua pihak, penulis sampaikan terima kasih setulus-tulusnya serta berharap akan adanya saran atau kritikan ke arah yang terbaik.

Makassar, 15 Maret 2012

A.Mujnisa

## ABSTRAK

A.MUJNISA. *Potensi Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi dari Feses Broiler sebagai Imbuhan Pakan terhadap Produktivitas Broiler* (dibimbing oleh Laily Agustina, Natsir Djide, dan Asmuddin Natsir).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menyeleksi BAL pada feses broiler yang berpotensi sebagai kandidat probiotik dan mengetahui kemampuan isolat dari feses Broiler dalam menggantikan peran antibiotika sebagai imbuhan pakan terhadap produktivitas broiler. Penelitian ini terdiri dari 3 tahap. Penelitian tahap pertama isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat (BAL) pada feses broiler. Penelitian tahap kedua seleksi BAL sebagai kandidat probiotik. Penelitian tahap ketiga pengaruh isolat BAL terpilih sebagai imbuhan pakan terhadap produktivitas broiler.

Isolasi BAL dilakukan pada media MRSA (*Man Rogosa Sharpe Agar*). Karakterisasi isolat BAL dilakukan dengan metode standar seperti pewarnaan gram, pengamatan morfologi sel, uji katalase dan uji fermentatif. Seleksi BAL sebagai kandidat probiotik meliputi produksi asam laktat, uji aktivitas antimikroba, ketahanan isolat BAL terhadap pH 2, 3, dan 4, ketahanan isolat BAL terhadap garam empedu 0,3% dan ketahanan terhadap suhu 30°C, 37°C, dan 41°C.

Sepuluh isolat berhasil diperoleh dari proses isolasi dan karakterisasi BAL feses broiler yang memiliki sifat Gram positif, katalase negatif dan tipe homofermentatif. Kesepuluh isolat tersebut adalah isolat M1, M2, M3, M4, M5, M7, M8, M23, M26 dan M28. Hasil uji selanjutnya menghasilkan isolat M1 berpotensi sebagai probiotik, dengan menggunakan API 50 CHL kit teridentifikasi sebagai *Lactococcus lactis ssp lactis 2*. Aplikasi probiotik BAL M1 pada ransum broiler menunjukkan bahwa pemberian isolat BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* pada level 0,5%, 1%, dan 1,5% (masing-masing setara dengan  $6,5 \times 10^8$  cfu/kg,  $1,3 \times 10^9$  cfu/kg, dan  $1,95 \times 10^9$  cfu/kg ransum) mampu meningkatkan pertambahan bobot badan, memperbaiki konversi ransum, menurunkan kolesterol daging dada dan kolesterol daging paha, serta menurunkan lemak daging dada lebih baik dibanding dengan perlakuan antibiotika dan perlakuan kontrol. Untuk perlakuan level probiotik, hasil terbaik diperoleh pada perlakuan pakan yang mengandung 1,5% BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam hal konversi ransum lebih baik, persentase karkas yang lebih tinggi, dan kolesterol daging paha yang lebih rendah.



## ABSTRACT

A. MUJNISA. *The Potency of Lactic Acid Bacteria Isolated from Broiler Feces as Feed Additive on The Productivity of Broiler* (Supervised by Laily Agustina, Natsir Djide, dan Asmuddin Natsir).

Research was carried out to isolate and to select lactic acid bacteria (LAB) from broiler feces as a potential probiotic and to evaluate its capacity in replacing antibiotics as feed additives in broiler ration on the performance of broiler. The experiment was divided into three stages. The first stage was isolation and characterization of lactic acid bacteria from broiler feces. The second stage was the selection of LAB as a potential probiotic. The third stage was to evaluate the effect of using the selected LAB isolate as feed additives on the productivity of broiler.

Isolation of LAB was conducted using *Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSa). Characterization of LAB isolates was carried out with a standard methods such as Gram staining, observation on cell morphology, catalase test, and fermentative test. Selection of LAB isolates as the potential probiotic was conducted by measuring lactic acid production, antimicrobial activity, LAB resistance on pH (2, 3, and 4), LAB resistance on 0.3% bile salts, and LAB resistance on temperatures (30°C, 37 °C, and 41°C).

Ten isolates were obtained from the process of isolation and characterization of LAB from the broiler feces having such characteristics as gram positive, negative catalase, and homofermentative type. Those ten isolate were marked as M1, M2, M3, M4, M5, M7, M8, M23, M26, and M28. Further test indicated that the isolate M1 as the potential probiotic. By using API 50 CHL kit, the M1 isolate was identified as *Lactococcus lactis ssp lactis 2*. Application of the isolate M1 as a probiotic in the broiler ration indicated that inclusion of *Lactococcus lactis* at the levels of 0.5%, 1%, or 1.5% (equivalent to  $6.5 \times 10^8$  cfu/kg,  $1.3 \times 10^9$  cfu/kg, and  $1.95 \times 10^9$  cfu/kg, respectively) increased body weight gain, improved feed conversion, decreased cholesterol of breast and thigh meat as well as fat content of breast meat of broiler compared to those given diets containing antibiotics and without antibiotics (control). Within probiotic treatments, the best result was obtained from the diets containing 1.5% *Lactococcus lactis ssp lactis 2* in terms of better feed conversion, higher carcass percentage, and lower cholesterol on thigh meat.



8. Workshop Penyusunan GBRP dan Modul Pembelajaran Berbasis SCL, Unhas 2009
9. Seminar nasional peternakan berkelanjutan "Sistem Produksi Berbasis Ekosistem Lokal". Padjajaran, Bandung 2010

### C. Penelitian/Publikasi Ilmiah

1. Produksi Bahan Kering, Kadar protein Kasar dan Ekonomi Nitrogen Pada *Setaria anceps* Akibat Pengaruh Penanaman Campuran dengan Beberapa Jenis Legum (Buletin ilmu peternakan dan perikanan, 1997)
2. Kualitas Silase Campuran Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) dengan beberapa Jenis Legum (Buletin Nutrisi dan Makanan ternak 2001)
3. Pengaruh Suplementasi Biji Markisa (*Passiflora edulis Sims*) Terhadap Performans Ternak Domba Betina Dewasa Dengan Ransum Basal Hijauan (Buletin Nutrisi dan Makanan ternak 2002).
4. Uji Sifat Fisik Jagung Giling Pada Berbagai Ukuran Partikel, 2007
5. Kecernaan Bahan Kering *in vitro*, Proporsi Molar Asam Lemak Terbang dan Produksi Gas pada Kulit Kakao, Biji Kapuk, Kulit Markisa dan Biji Markis (Buletin Nutrisi dan Makanan ternak 2007).
6. Kecernaan Bahan Kering dan Bahan Organik Silase Rumput Raja dengan Penambahan Substrat Primer (Jurnal Perkebunan dan Agribisnis agrokompleks 2008)
7. Evaluasi Kecernaan Pakan Potensial untuk Ternak Ruminansia di Sulawesi Selatan (Prosiding seminar Nasional Peternakan Berkelanjutan 2010)
8. Produksi Asam Laktat dan Daya Hambat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Feses Broiler (Buletin Nutrisi dan Makanan ternak 2011).

## DAFTAR ISI

	halaman
<b>PRAKATA .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>viii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xviii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN .....</b>	<b>xix</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian .....	5
D. Manfaat Penelitian .....	5
E. Ruang Lingkup.....	6
F. Definisi dan Istilah .....	7
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>9</b>
A. Bakteri Asam Laktat (BAL).....	9
B. Karakteristik BAL Sebagai Probiotik.....	16
C. Mekanisme Kerja Probiotik .....	20
D. Peranan Probiotik BAL pada Ayam.....	24
E. Peranan Probiotik BAL Terhadap Penurunan Kolesterol .....	28
F. Biosintesis Kolesterol.....	31
G. Sistem Pencernaan Ayam.....	35
H. Mikroflora Saluran Pencernaan Ayam.....	37
I. Kerangka Konseptual .....	39
J. Hipotesis Penelitian.....	41

<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>41</b>
A. Waktu dan Lokasi Penelitian .....	42
B. Bahan dan Alat .....	43
C. Pelaksanaan Penelitian .....	45
C.1. Isolasi dan Karakterisasi BAL dari Feses broiler.....	46
C.1.1. Isolasi BAL.....	46
C.1.2. Karakterisasi BAL.....	47
C.1.2.1. Pewarnaan Gram.....	48
C.1.2.2. Uji katalase.....	49
C.1.2.3. Uji Tipe Fermentasi.....	49
C.2. Seleksi BAL sebagai kandidat probiotik .....	50
C.2.1. Uji Produksi Asam laktat.....	50
C.2.2. Uji Aktivitas Antimikroba.....	51
C.2.3. Uji Ketahanan terhadap pH Asam.....	53
C.2.4. Uji Ketahanan terhadap Garam Empedu.....	55
C.2.5. Uji Ketahanan terhadap Suhu.....	56
C.3. Pengaruh Isolat BAL Terpilih terhadap Produktivitas Broiler.....	57
C.3.1. Tahap Persiapan.....	57
C.3.2. Pengelompokan Ayam penelitian.....	58
C.3.3. Ransum Penelitian.....	58
C.3.4. Pengumpulan Data .....	62
D. Analisis Data.....	65
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>66</b>
A. Isolasi dan Karakterisasi BAL .....	66
B. Seleksi BAL sebagai Kandidat Probiotik .....	70
B.1. Aktivitas Antimikroba terhadap Bakteri Patogen.....	70
B.2. Ketahanan terhadap pH Asam.....	74
B.3. Ketahanan terhadap Garam Empedu.....	77
B.4. Ketahanan terhadap Suhu.....	80
B.5. Pemilihan isolat BAL yang Diisolasi dari Feses Broiler untuk uji <i>in vivo</i> .....	82

C. Pengaruh Isolat BAL Terpilih terhadap Produktivitas Broiler.....	87
C.1. Konsumsi Ransum, PBB, dan Konversi Pakan .....	87
C.2. Persentase Karkas dan Lemak Abdominal Broiler .....	93
C.3. Kolesterol Darah, Kolesterol Ekskreta, Kolesterol Daging Dada dan Paha Broiler.....	96
C.5. Lemak Daging Dada dan Lemak Daging Paha Broiler.....	101
<b>PEMBAHASAN UMUM .....</b>	<b>104</b>
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>111</b>
A. Kesimpulan .....	111
B. Saran .....	112
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>113</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>122</b>

## DAFTAR TABEL

No		halaman
1.	Kandungan Nutrisi Bahan Pakan yang Digunakan Dalam Menyusun Ransum Penelitian.....	60
2.	Komposisi Bahan Pakan dan Zat-zat Makanan dalam Ransum Perlakuan .....	60
3.	<i>Persyaratan Mutu Pakan Broiler Fase Starter dan Fase Finisher Berdasarkan SNI 2006</i> .....	61
4.	Karakteristik Isolat BAL Hasil Isolasi dari Feses Broiler .....	67
5.	Produksi Asam Laktat dan pH Akhir Inkubasi Isolat BAL .....	73
6.	Urutan Ranking Isolat BAL Feses Broiler Berdasarkan Masing-masing Sifat yang Diuji .....	83
7.	Profil Fermentasi Karbohidrat Isolat M1 setelah 48 Jam Pascainokulas pada Perangkat API 50 CHL .....	85
8.	Hasil Analisis Statistik Konsumsi Ransum Kumulatif, PBB, dan Konversi Pakan Broiler Percobaan pada Berbagai Perlakuan Selama 35 Hari .....	87
9.	Indeks Produksi Broiler Selama 35 Hari pada Berbagai Perlakuan .....	92
10.	Hasil Analisis Statistik Persentase Karkas dan Lemak Abdominal Broiler Percobaan pada Berbagai Perlakuan Selama 35 Hari .....	93
11.	Hasil Analisis Statistik Kolesterol Serum Darah, kolesterol Ekskreta, Kolesterol Daging Dada dan Paha Broiler pada BerbagaiPerlakuan Selama 35 Hari .....	97
12.	Hasil Analisis Statistik Kadar HDL dan LDL Broiler Percobaan pada Berbagai PerlakuanSelama 30 Hari.....	100
13.	Hasil Analisis Statistik Lemak Daging Dada dan Lemak Daging Paha Broiler Percobaan pada Berbagai Perlakuan	

Selama 35 Hari .....	102
----------------------	-----



## DAFTAR GAMBAR

No		halaman
1.	Perbandingan Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif .....	12
2.	Fermentasi Glukosa oleh BAL Homofermentatif .....	14
3.	Fermentasi Glukosa oleh BAL Heterofermentatif .....	15
4.	Biosintesis dan Degradasi Asam-Asam Empedu .....	30
5.	Biosintesis Kolesterol.....	34
6.	Sistem Saluran Pencernaan pada Broiler.....	35
7.	Alur Penelitian .....	45
8.	Diagram Alir Proses Pembuatan Tepung Probiotik BAL .....	62
9.	Aktivitas Antimikroba Isolat BAL Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	71
10.	Aktivitas Antimikroba Isolat BAL Terhadap <i>Salmonella typhimurium</i> .....	71
11.	Ketahanan Isolat BAL Terhadap pH 2, 3, dan 4 Selama 24 Jam.....	75
12.	Ketahanan Isolat BAL Terhadap Garam Empedu Selama 24 Jam .....	78
13.	Ketahanan Isolat BAL Terhadap Suhu 30 <sup>0</sup> C, 37 <sup>0</sup> C, dan 41 <sup>0</sup> C Selama 24 Jam .....	81
14.	Hasil Identifikasi Isolat M1 setelah 48 Jam Pascainokulasi pada Perangkat API 50 CHL .....	84
15.	Hasil Pewarnaan Gram BAL M1.....	86
16.	Kurva Respon Konversi Ransum Broiler oleh Pengaruh Level Pemberian <i>Lactococcus lactis ssp lactis 2</i> .....	91

17. Kurva Respon Persentase Karkas Broiler oleh Pengaruh Level Pemberian *Lactococcus lactis ssp lactis* 2 ..... 95

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	halaman
1. Gambar Koloni BAL Hasil Isolasi pada Feses Broiler.....	122
2. Data Hasil Uji Aktivitas Isolat BAL terhadap Bakteri Patogen <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella typhimurium</i> .....	123
3. Ketahanan Isolat BAL terhadap pH Asam .....	124
4. Ketahanan Isolat BAL terhadap Garam Empedu.....	127
5. Ketahanan Isolat BAL terhadap Suhu .....	128
6. Rata-rata Produktivitas Broiler Selama Penelitian.....	131
7. Oneway Anova, Uji Kontras Ortogonal, dan Uji Kontras Polynomial .....	136

**DAFTAR SINGKATAN**

ADP	Adenosin diphosphate
API	Academic performance indeks
ATP	Adenosin triphosphate
BAL	Bakteri Asam Laktat
EMP	Emden Meyerhoff Pathway
HDL	High Density Lipoprotein
HMG KoA	Hidroxi Methil Glutaril KoA
LDL	Low Density Lipoprotein
MRSA	deMan Rogosa Sharpe Agar
MRSB	deMan Rogosa Sharpe Broth
NA	Nutrient Agar
NAD	Nikotinamida Adenin Dinukleotida (teroksidasi)
NADH	Nikotinamida Adenin Dinukleotida (tereduksi)
PBB	Pertambahan Bobot Badan
SNI	Standar Nasional Indonesia
VLDL	Very Low Density Lipoprotein



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Pembangunan subsektor peternakan diarahkan pada tujuan pencapaian kebutuhan protein hewani, baik secara kualitas maupun kuantitas. Salah satu langkah yang dapat ditempuh dalam upaya pencapaian pemenuhan kebutuhan protein khususnya protein hewani adalah pengembangan usaha peternakan broiler. Broiler merupakan pilihan utama untuk dikembangkan dalam upaya memenuhi kebutuhan gizi khususnya protein hewani, karena mempunyai pertumbuhan cepat dan dagingnya dapat diterima oleh sebagian besar lapisan masyarakat.

Broiler memegang peranan penting dalam penyediaan daging di Indonesia dalam kurun waktu lima tahun terakhir (2006-2010), hal ini terlihat dari data statistik peternakan yang memperlihatkan peningkatan populasi broiler dengan pertumbuhan rata-rata per tahun sebesar 5,7%, dan rata-rata kontribusi daging broiler sebesar 46,3% per tahun dari total produksi daging.

Dalam upaya memacu pertumbuhan dan mencegah penyakit pada broiler, penggunaan antibiotika dalam pakan merupakan hal esensial. Namun pada awal tahun 2006, penggunaan antibiotika dilarang oleh Uni Eropa sebagai pencegah penyakit (*disease prophylactic*) atau dikenal

sebagai pemicu pertumbuhan (*Antimicrobial Growth Promoters*) di dalam pakan ternak, karena penggunaan antibiotika secara terus menerus dapat menimbulkan terakumulasinya residu antibiotika di dalam tubuh ternak seperti di bagian otot, hati, dan organ lain. Apabila produk ini dikonsumsi oleh manusia, maka akan dapat menyebabkan gangguan kesehatan.

Berbagai macam studi memperlihatkan bahwa penggunaan antibiotika sebagai pemacu pertumbuhan dapat membahayakan baik ternak maupun konsumen, namun kenyataan di lapangan menunjukkan bahwa penggunaan antibiotika sangat meluas dan sulit dikontrol, dan penggunaan antibiotika banyak ditemukan penggunaannya pada pakan.

Perkembangan persyaratan keamanan pangan membatasi penggunaan antibiotika, karena selain sifat positifnya yang dapat menekan infeksi bakteri patogen, antibiotika juga dapat membunuh mikroba saluran pencernaan makanan yang menguntungkan (Purwadaria, dkk., 2003). Sehingga adopsi teknologi sangat dibutuhkan untuk mendukung produksi yang maksimal dan berkelanjutan, dengan memperhatikan keamanan dan kesehatan produk. Selain ancaman adanya residu antibiotika dalam produk, maka kualitas daging mencakup kandungan lemak dan kolesterol juga menjadi masalah penolakan konsumen.

Masalah tersebut diatas dapat diatasi dengan penggunaan imbuhan pakan alternatif, yaitu penggunaan probiotik yang dapat mengganti fungsi dari antibiotika dalam pakan sebagai pemacu pertumbuhan. Pada umumnya, probiotik yang banyak digunakan pada

unggas adalah jenis bakteri asam laktat (BAL). Pemanfaatan probiotik BAL lebih banyak digunakan sebagai imbuhan pakan dibandingkan bakteri jenis lain, dan beberapa strain BAL telah mendapatkan status GRAS (*Generally Recognized As Safe*) karena BAL dapat memberikan pengaruh yang menguntungkan bagi ayam, yaitu meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan tanpa terjadinya proses penyerapan komponen probiotik dalam tubuh ternak, sehingga tidak terdapat residu dalam tubuh ternak, serta mampu menurunkan kolesterol daging (Wahyudi dan Hendraningsih, 2007).

Sampai saat ini sudah banyak penelitian yang memfokuskan penggunaan BAL sebagai probiotik. Penelitian tentang efek dari beberapa BAL terhadap performan unggas telah banyak dilakukan, namun hasil dari penelitian ini secara umum belum memberikan hasil yang konsisten. Beberapa penelitian memberikan hasil positif terhadap penampilan produksi unggas, akan tetapi penelitian lain menunjukkan pemberian probiotik dalam ransum tidak meningkatkan performan seperti pada unggas yang diberi antibiotika.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Daud, dkk (2007) dengan pemberian probiotik 0,2% dalam ransum ayam pedaging tidak mampu mengubah persentase karkas secara signifikan demikian pula terhadap kadar lemak daging dan lemak abdominal, tetapi dapat mengurangi kadar kolesterol dada. Sedangkan penelitian Afriani (2002) menunjukkan penambahan probiotik dalam ransum broiler belum mampu memperbaiki

efisiensi penggunaan ransum maupun kadar lemak daging, akan tetapi dapat menurunkan kolesterol daging.

Perbedaan ini disebabkan oleh beberapa hal, diantaranya jenis atau strain bakteri dalam probiotik tersebut, dosis pemberiannya pada ternak, tingkat ketahanan bakteri terhadap kondisi yang ekstrim baik dalam saluran pencernaan ternak maupun lingkungan penyimpanan. Chou dan Weimer (1999) mendapatkan bahwa diantara galur-galur BAL dari spesies yang sama serta diisolasi dari sumber yang sama, memiliki keragaman pada toleransi terhadap garam empedu.

Berdasarkan hal-hal tersebut diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan BAL sebagai probiotik yang bersumber dari broiler itu sendiri yaitu dengan cara melakukan isolasi dan seleksi BAL dari feses broiler untuk mendapatkan isolat BAL yang terbaik untuk dijadikan sebagai imbuhan pakan alternatif (*feed additives*) dengan dosis yang tepat untuk memperbaiki penampilan produksi 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.



## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

- (1) Bagaimana potensi BAL yang diisolasi dari feses broiler sebagai kandidat probiotik.
- (2) Bagaimana kemampuan isolat BAL dari feses broiler menggantikan fungsi antibiotika sebagai imbuhan pakan terhadap produktivitas broiler.

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- (1) Mengisolasi dan menyeleksi BAL pada feses broiler yang berpotensi sebagai kandidat probiotik .
- (2) Mengetahui kemampuan isolat BAL dari feses broiler menggantikan peran antibiotika sebagai imbuhan pakan terhadap produktivitas broiler.

## **D. Manfaat Penelitian**

Mendapatkan isolat BAL dari feses broiler yang berpotensi sebagai kultur dalam pembuatan dan pengembangan probiotik BAL sebagai imbuhan pakan (*feed additives*) untuk meningkatkan produktivitas broiler dan menghasilkan produk yang sehat dan aman untuk dikonsumsi, serta sebagai sumber informasi bagi industri peternakan dalam memanfaatkan feses broiler sebagai salah sumber agensia probiotik.

### **E. Ruang Lingkup**

Ruang lingkup penelitian ini mencakup isolasi dan seleksi BAL pada feses broiler sebagai kandidat probiotik, dimana faktor-faktor yang mempengaruhi ketahanan hidup dan pertumbuhan dalam usus digunakan dalam menentukan strain-strain yang berpotensi sebagai probiotik, sehingga untuk batasan penelitian dilakukan uji aktifitas antimikroba, uji ketahanan terhadap simulasi kondisi saluran pencernaan meliputi uji ketahanan terhadap pH asam (pH 2, 3, dan 4), uji ketahanan terhadap garam empedu 0,3%, dan uji ketahanan terhadap suhu (30°C, 37°C, dan suhu 41°C). Demikian pula dengan pengaruh probiotik terhadap produktivitas broiler, batasan umum yang dilakukan yaitu konsumsi kumulatif, penambahan bobot badan, konversi ransum, kadar kolesterol darah, kolesterol dada, kolesterol paha, kadar lemak daging dada dan paha broiler. Sehingga secara ilmiah dapat dibuktikan dan mempunyai nilai komersial serta memberi keamanan kesehatan bagi konsumen.

## F. Definisi dan Istilah

- Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri Gram positif, berbentuk batang atau bulat, katalase negatif, tidak membentuk spora, umumnya tidak motil tetapi terdapat beberapa yang motil, mikroaerofilik sampai anaerob, tidak mereduksi nitrit dan nitrat, suhu optimum pertumbuhan antara 20 °C – 40 °C.
- Imbuhan pakan (*Feed additives*) adalah suatu bahan yang sengaja ditambahkan ke dalam pakan sebagai pelengkap untuk tujuan tertentu. *Feed additives* ada yang langsung dicampurkan ke dalam pakan komersial seperti pemberi bau enak, enzim, antioksidan, hormon, dan antibiotika. *feed additives* tidak bekerja sebagai zat makanan tetapi berpengaruh terhadap metabolisme sehingga pakan yang dikonsumsi ayam lebih efisien.
- Probiotik adalah sediaan sel mikroba hidup atau komponen dari sel mikroba yang mempunyai pengaruh menguntungkan pada kesehatan dan kehidupan inangnya.
- Konsumsi ransum adalah jumlah ransum yang dimakan dalam jangka waktu tertentu untuk memenuhi keperluan energi dan nutrisi
- Konversi ransum (FCR) adalah perbandingan antara konsumsi ransum dengan pertambahan berat badan yang diperoleh selama waktu tertentu. Konversi ransum broiler berkisar 1,79- 1,85 (Wahju, 1997).
- Karkas adalah bagian tubuh ayam yang telah dipotong tanpa bulu, kepala, leher, kaki bawah, serta organ dalam.

- Lemak abdominal merupakan lemak yang terdapat di rongga perut (abdomen) ayam. Lemak abdominal ayam pedaging berkisar antara 1,6-3,5 % dari bobot badan.
- Indeks produksi adalah salah satu cara untuk mengetahui tingkat keberhasilan dalam usaha peternakan. Indeks produksi dipengaruhi oleh bobot badan akhir, persentase ayam yang hidup, lama pemeliharaan dan konversi ransum.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat (BAL) secara morfologis termasuk kelompok bakteri gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk batang atau bulat, katalase negatif, tidak membentuk spora, umumnya tidak motil tetapi terdapat beberapa yang motil, mikroaerofilik sampai anaerob dan kebutuhan akan temperatur mesofilik serta toleran terhadap asam. Suhu optimum pertumbuhan BAL antara 20 °C – 40 °C. Bakteri asam laktat ada yang berbentuk batang (*Lactobacillus*, *Carbobacterium*, dan *Bifidobacterium*) dan bulat (*Lactococcus*, *Vagococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Tetragenococcus*). Kelompok bakteri ini mampu memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat. (Fardiaz, 1992; Adam dan Moss, 1997).

Kelompok BAL dapat memetabolisme berbagai jenis karbohidrat secara fermentatif menjadi asam laktat, sehingga disebut bakteri asam laktat (Djide, 2010). Asam laktat ( $\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$ ) merupakan salah satu asam organik, tidak berbau, tidak berwarna, dan bersifat higroskopis pada suhu kamar, tidak beracun, larut dalam eter, etanol, gliserol dan air tetapi tidak larut dalam kloroform, eter sulfida dan karbon sulfida (Sa'id, 1987). Asam laktat digunakan sebagai pengontrol pH atau penghambat

bakteri patogen pada berbagai proses pengolahan makanan dan pemberian pada pakan unggas dan ikan dapat meningkatkan penampilan produksi (Narayanan dkk., 2004).

Perkembangan klasifikasi BAL yang terbaru menurut Salminen dan Wright (1998), terdiri atas 16 genera yaitu *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Dolosigranulum*, *Globicatella*, *Carbobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* dan *Weissella*.

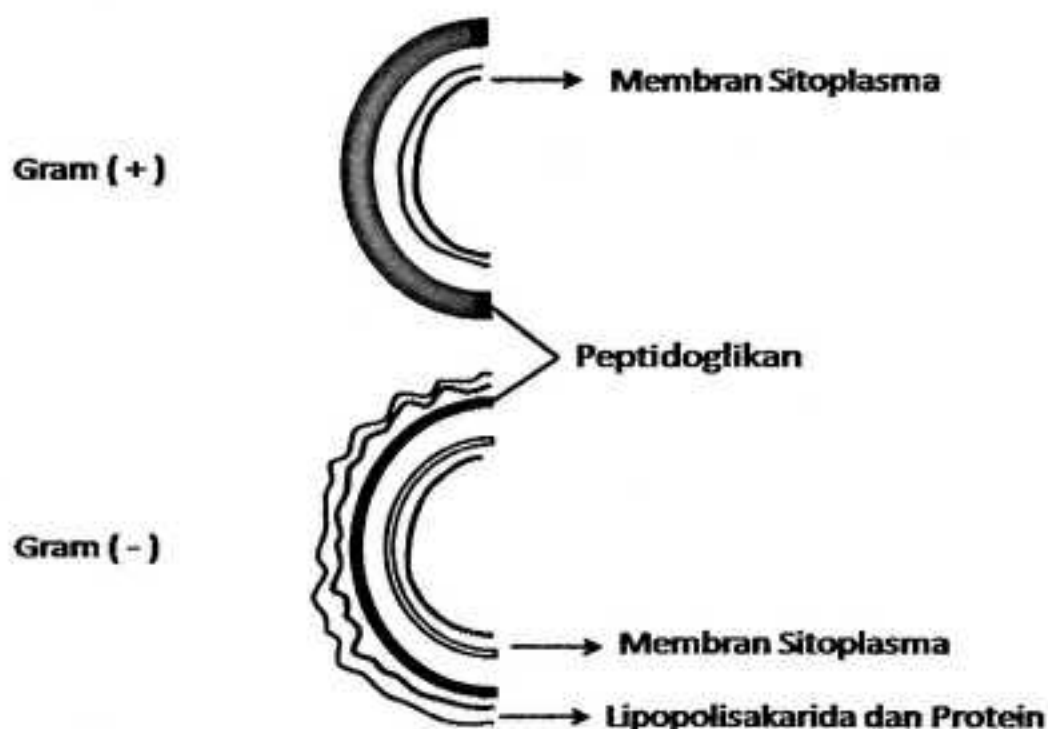
Secara morfologi BAL dikelompokkan menjadi dua famili, yakni *Lactobacillaceae* yang berbentuk batang dan *Streptococcaceae* yang berbentuk bulat. Genus *Lactobacillus* termasuk famili *Lactobacillaceae*. Sedangkan yang termasuk dalam famili *Streptococcaceae* yakni genus *Streptococcus*, *Leuconostoc*, dan *Pediococcus* (Mitsuoka, 1989).

Secara umum grup inti dari BAL terdiri dari 4 genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus* yang didasarkan pada ciri morfologi, tipe fermentasi, kemampuan tumbuh pada suhu berbeda, serta toleransi terhadap asam dan basa. Klasifikasi BAL terus berkembang sehingga genus *Lactobacillus* menjadi *Lactobacillus* dan *Carnobacterium*. Genus *Streptococcus* menjadi 4 yaitu *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Enterococcus*. Genus *Pediococcus* menjadi *Pediococcus*, *Tetratogenococcus*, dan *Aerococcus*. (Axelsson, 1998)

Menurut Fardiaz (1992), karakteristik BAL dapat diuji melalui : (a) penampakan mikroskopis, (b) uji katalase, dan (c) uji biokimia. Penampakan mikroskopis adalah penampakan sel bakteri dengan menggunakan mikroskop medan terang, sehingga dapat diketahui jenis gram dan morfologi sel bakteri tersebut. Uji katalase adalah uji yang menggunakan pereaksi hidrogen peroksida yang bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya produksi enzim katalase oleh sel bakteri yang diuji. Sedangkan uji secara biokimia dikenal juga sebagai *biotyping* yang berguna untuk studi epidemiologi, klasifikasi dan identifikasi. *Biotyping* merupakan penggolongan bakteri berdasarkan kemampuan mikroorganisme dalam menggunakan bahan kimia, yang meliputi fermentasi berbagai jenis gula, sifat homofermentatif atau heterofermentatif terhadap glukosa (Baron dkk., 1994).

Waluyo (2005) menyatakan berdasarkan struktur dinding selnya bakteri terdiri dari bakteri gram positif dan gram negatif. Perbedaan dinding sel yang mencolok dari kedua jenis bakteri tersebut adalah adanya lapisan tambahan (terluar) pada dinding sel yaitu protein dan *Lipopolisakarida* (ikatan lipid dan polisakarida dan membentuk struktur khas) yang hanya terdapat pada bakteri gram negatif, sehingga dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dibandingkan dengan dinding sel bakteri gram positif.

Pada umumnya bakteri gram negatif mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antimikroba dibanding bakteri gram positif. Struktur dinding sel gram negatif lebih kompleks daripada bakteri gram positif, sehingga senyawa antimikroba akan lebih mudah masuk ke dalam sel bakteri gram positif (Pelczar and Chan, 2007)



Gambar 1. Perbandingan dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif (Waluyo, 2005).

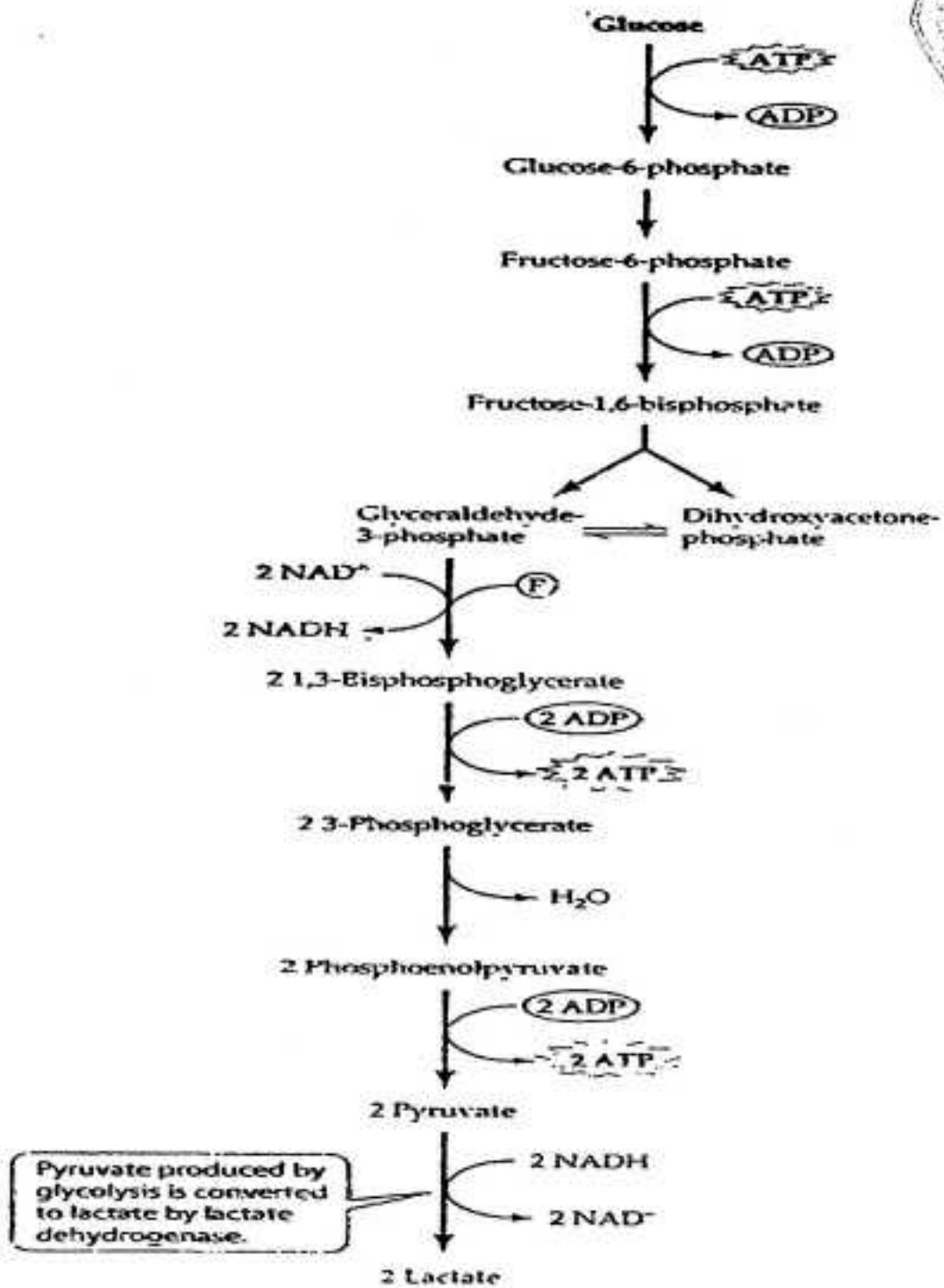
BAL merupakan kelompok bakteri yang dalam proses metabolisme karbohidrat akan menghasilkan asam laktat sebagai hasil utamanya. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat adalah mampu tumbuh pada kondisi lingkungan mengandung gula, etanol, dan garam yang tinggi, tumbuh pada pH 3,8-8,0, serta mampu memfermentasi berbagai monosakarida



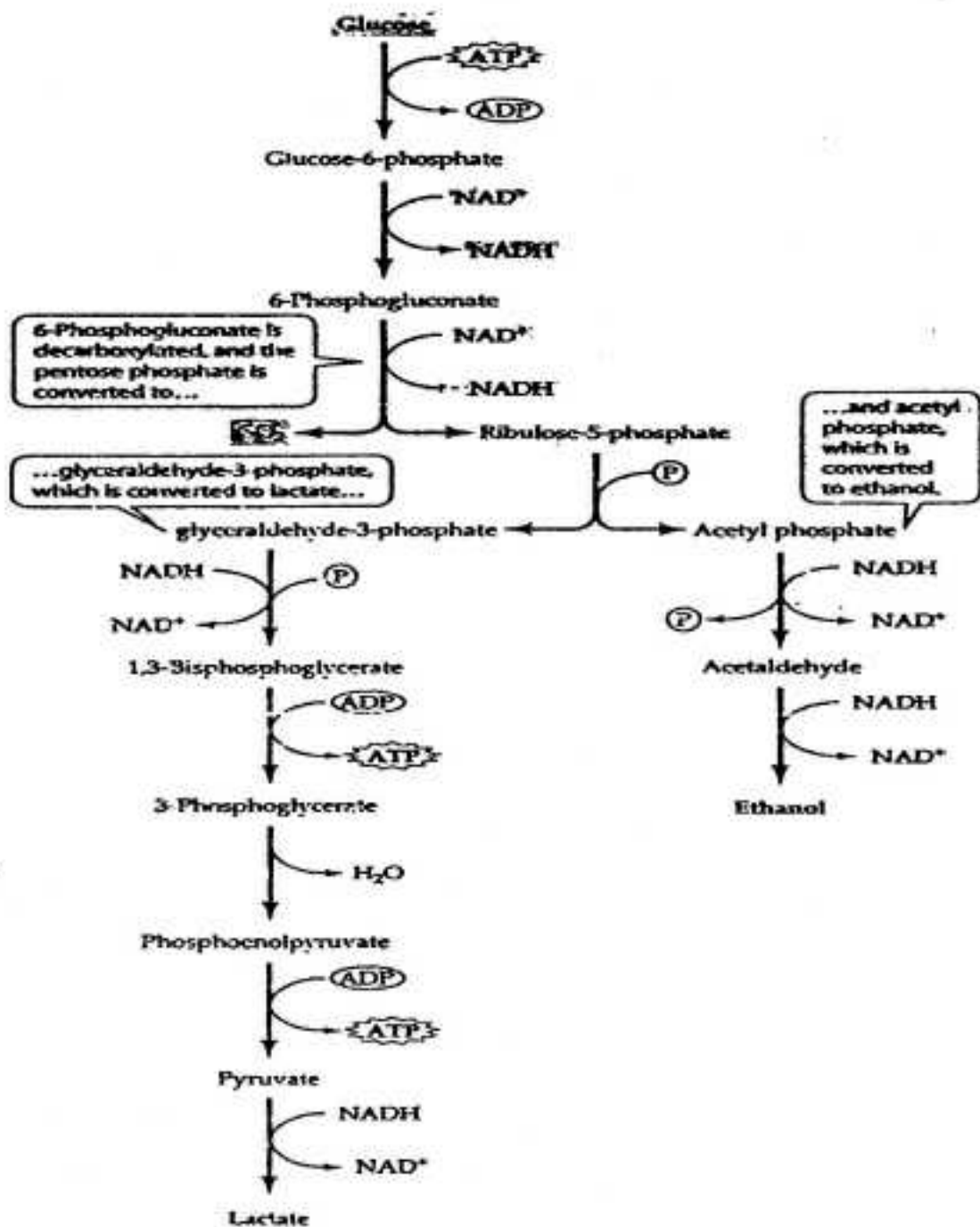
dan disakarida. Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri mempunyai suhu optimum pertumbuhan antara 20-40°C (Stamer, 1979).

Berdasarkan kemampuannya dalam metabolisme glukosa dan produk akhir yang dihasilkan, bakteri asam laktat dibagi menjadi dua kelompok yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri asam laktat homofermentatif merupakan bakteri asam laktat yang memproduksi asam laktat sebagai produk utama atau satu-satunya produk hasil fermentasi glukosa, sedangkan bakteri asam laktat heterofermentatif yaitu bakteri asam laktat yang memproduksi asam laktat, CO<sub>2</sub> dan etanol (Jay, 2000).

Kelompok BAL homofermentatif yaitu spesies BAL yang mengoksidasi glukosa menjadi asam laktat melalui jalur Embden-Meyerhoff-Parnas (EMP) yaitu pembentukan 2 molekul piruvat dari glukosa atau fruktosa menjadi 2 molekul asam laktat, sedangkan kelompok heterofermentatif menghasilkan campuran produk fermentasi asam laktat dan produk lain yaitu asam asetat, etanol, gas CO<sub>2</sub> melalui jalur fermentasi 6-fosfoglukonat/ fosfoketolase (Axelsson, 1998; Purwoko, 2007; Madigan dkk, 2009; Perry dkk., 2002). Asam laktat dan asam lemah lain yang dihasilkan BAL dapat memberikan efek bakterisidal untuk bakteri lain karena pH lingkungan dapat turun menjadi 3-4,5. Pada pH tersebut, BAL tetap dapat hidup sedangkan bakteri lain akan mati.



Gambar 2. Fermentasi glukosa oleh BAL homofermentatif (Perry dkk., 2002)



Gambar 3. Fermentasi glukosa oleh BAL heterofermentatif (Perry dkk., 2002).

## **B. Karakteristik BAL sebagai Probiotik**

Kata probiotik berasal dari bahasa Yunani yang artinya adalah "untuk kehidupan" dan pertama kali istilah probiotik digunakan oleh Lilley dan Stillwell pada tahun 1965 untuk menjelaskan substansi yang dihasilkan oleh suatu organisme yang merangsang pertumbuhan organisme lain sehingga merupakan lawan kata dari antibiotik yaitu senyawa yang digunakan untuk membunuh mikroba. Probiotik didefinisikan juga sebagai organisme yang memberikan kontribusi terhadap keseimbangan mikroflora dalam usus (Ahmad, 2006).

Pengertian probiotik yang dianggap paling tepat dan sering digunakan sampai sekarang adalah kultur tunggal ataupun campuran dari mikrobial hidup yang dikonsumsi manusia dan/atau hewan, memiliki efek menguntungkan bagi inangnya (manusia maupun hewan) dengan cara menjaga keseimbangan mikroflora alami yang ada dalam tubuh (Havenaar dkk., 1992). Karakteristik suatu bakteri untuk dapat dikategorikan sebagai probiotik antara lain memberikan efek positif terhadap inang, mampu bertahan pada kondisi saluran pencernaan seperti ketahanan terhadap pH rendah dan tahan terhadap garam empedu, tidak bersifat racun, dan mampu menekan mikroorganisme patogen di dalam saluran pencernaan (Choudhari dkk., 2008).

Menurut Salminen dkk (2004), bahwa suatu bakteri dapat dikatakan sebagai bakteri probiotik apabila memenuhi beberapa kriteria yakni bersifat nonpatogenik, masih aktif dalam kondisi asam lambung

sehingga mampu bertahan dan hidup selama melalui lambung dan usus, stabil terhadap garam empedu agar mampu bertahan hidup selama berada pada bagian atas usus halus karena empedu disekresikan ke dalam usus untuk membantu lemak dan asam empedu yang terkonjugasi untuk diserap oleh usus halus, serta memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri merugikan.

BAL sebagai bakteri probiotik harus mampu menurunkan jumlah bakteri patogen dalam usus karena BAL memiliki komponen antimikroba (Rashid dkk., 2007). Drago dkk (1997) berhasil menguji kemampuan beberapa galur isolat klinis *Lactobacillus* dalam menghambat bakteri patogen (*E. coli*, *S. enteridis* dan *Vibrio cholerae*). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan bakteri asam laktat ini disebabkan oleh produksi senyawa antimikroba berupa asam laktat dan metabolit lainnya seperti bakteriosin, hidrogen peroksida dan asam lemak rantai pendek. Sebagian dari senyawa ini memperlihatkan aktivitas antagonistik terhadap banyak mikroba perusak dan patogen.

Menurut Frazier dan Westhoff (1988), efektifitas antimikroba dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain (1) jenis, jumlah, umur dan latar belakang kehidupan mikroba, (2) konsentrasi zat antimikroba, (3) suhu dan waktu kontak, (4) sifat fisika-kimia substrat (pH, kadar air, tegangan permukaan, jenis dan jumlah zat terlarut, dan senyawa lainnya).

Menurut Salminen dkk (2004), metabolit-metabolit bakteri asam laktat yang berfungsi sebagai senyawa antimikroba antara lain asam organik (asam laktat dan asam asetat), bakteriosin, hidrogen peroksida, diasetil, karbondioksida. Senyawa antimikroba dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuh mikroba dengan mekanisme berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat proses pembentukannya atau menyebabkan lisis pada dinding sel yang sudah terbentuk, dan perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga terjadi kebocoran zat nutrisi dari dalam sel, dengan rusaknya membran sitoplasma akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan atau matinya sel.

Faktor-faktor yang mempengaruhi ketahanan hidup dan pertumbuhan dalam usus digunakan dalam menentukan strain-strain 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 dimana garam empedu disekresikan. Setelah perjalanan melalui lingkungan yang sulit, bakteri probiotik harus mampu menempel pada mukosa usus. Kemampuan menempel pada sel epitel merupakan indikasi bahwa bakteri ini dapat melakukan kolonisasi di dalam usus.

Toleransi terhadap asam menunjukkan kemampuan untuk bertahan hidup di dalam saluran usus. Strain yang tahan terhadap asam lambung akan lebih bertahan hidup di saluran usus (Widodo, 2003). Setiap bakteri mempunyai kisaran nilai pH pertumbuhan, yaitu kondisi lingkungan pH yang masih memungkinkan pertumbuhan terjadi dan masing-masing bakteri biasanya mempunyai pH optimum. Kebanyakan mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6,0-8,0 dan nilai pH di luar kisaran kurang dari 2,0 dan lebih dari 10,0 biasanya bersifat merusak (Buckle dkk., 2007). Komposisi asam lemak dan protein pada membran sitoplasma ini diduga mempengaruhi ketahanan bakteri terhadap pH rendah (Susanti dkk., 2007; Hutkins dan Nannen, 1993).

Menurut Zavaglia dkk (1998), semua mikroba yang berhasil hidup setelah ditumbuhkan dalam MRSA (*deMan Rogosa Sharpe Agar*) yang ditambah 0,3% Oxgal, dinyatakan bersifat tahan terhadap garam empedu. Konsentrasi garam empedu sebesar 0,3% merupakan konsentrasi kritikal dan merupakan nilai yang cukup tinggi untuk menyeleksi isolat yang resisten terhadap garam empedu yang terdapat pada bagian usus halus.

Ketahanan terhadap garam empedu dianggap salah satu syarat agar bakteri mampu tumbuh dan beraktivitas dalam usus halus karena dinding sel bakteri terdiri dari lemak sehingga berpeluang akan terjadinya lisis (Mourad dan Eddine, 2006). Garam empedu digunakan oleh usus halus untuk mengemulsi dan menyerap lemak, fosfolipid, kolesterol, dan lipoprotein. Garam empedu bersifat sebagai senyawa aktif pada

permukaan sel sehingga dapat menembus dan bereaksi dengan sisi membran sitoplasma yang bersifat lipofilik dan menyebabkan perubahan dan kerusakan struktur membran (Hill, 1995).

Salah satu kriteria yang perlu dipertimbangkan untuk mendapatkan produk probiotik dengan pengaruh positif optimal bagi inangnya, diantaranya adalah produk probiotik diharapkan memiliki jumlah sel hidup besar ( $10^7 - 10^9$  cfu/ml) dan total konsumsi produk probiotik sekitar 300-400 g per minggu (Surono,2004).

### **C. Mekanisme Kerja Probiotik**

Probiotik sebagai suplemen makanan yang mengandung mikrobia hidup yang disuplementasikan ke dalam makanan atau pakan memiliki efek menguntungkan bagi inangnya yang mengkonsumsi, dengan cara memperbaiki keseimbangan mikroflora saluran pencernaan (Gibson dan Fuller, 2000). Selanjutnya Verschere dkk (2000) menyatakan bahwa probiotik sebagai penambah mikroba hidup yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi komunitas mikroba lingkungan hidupnya.

Fuller (2002) menyatakan bahwa keseimbangan mikroflora usus tercapai apabila mikroorganisme yang menguntungkan dapat menekan mikroorganisme yang merugikan, selanjutnya dinyatakan bahwa prinsip kerja probiotik meliputi kompetisi untuk mendapatkan zat makanan, kompetisi mendapatkan tempat pelekatan pada epitel saluran pencernaan,



dan penghambatan secara langsung terhadap kehidupan mikroba patogen.

Leeson dan Summers (2005) menyatakan bahwa meskipun kerja dari probiotik masih belum jelas, namun probiotik dapat berfungsi a). Mengubah flora dalam saluran pencernaan dengan menekan populasi *E.coli*, b). Meningkatkan produksi laktat yang selanjutnya terjadi perubahan pH usus halus, c). Produksi senyawa yang mirip dengan antibiotika. Rowghani dkk (2007) menyatakan probiotik dapat meningkatkan respon imunitas pada anak ayam. Mekanisme probiotik hingga dapat meningkatkan kesehatan tubuh adalah dengan cara memproduksi senyawa antimikroba seperti asam laktat, asam asetat, karbondioksida, bakteriosin dan senyawa penghambat bakteri lainnya; berkompetisi dalam penyerapan nutrisi dan penempelan pada sel epitel usus; dan menstimulasi sistem imun serta mampu mengubah aktivitas metabolisme mikroba dalam saluran pencernaan.

Menurut Budiansyah (2004), mekanisme kerja dari probiotik masih banyak yang kontroversi, tetapi beberapa mekanisme berikut penting untuk menjadi bahan pertimbangan antara lain adalah :

*1. Melekat / menempel dan berkolonisasi dalam saluran pencernaan.*

Kemampuan probiotik untuk bertahan hidup dalam saluran pencernaan dan menempel pada sel-sel usus merupakan tahap pertama untuk berkolonisasi. Kemampuan menempel yang kuat pada sel-sel usus ini akan menyebabkan mikroba-mikroba probiotik berkembang dengan

baik dan mikroba-mikroba patogen tereduksi dari sel-sel usus hewan inang, sehingga perkembangan organisme-organisme patogen yang menyebabkan penyakit seperti *E. coli*, *Salmonella thyphimurium* dalam saluran pencernaan akan mengalami hambatan. Sejumlah probiotik telah memperlihatkan kemampuan menempel yang kuat pada sel-sel usus manusia seperti *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* dan sejumlah besar *Bifidobacteria*. (McNaught and MacFie, 2000).

### 2. Berkompetsi terhadap makanan dan memproduksi zat anti mikrobal

Mikroba probiotik menghambat organisme patogenik dengan berkompetisi untuk mendapatkan sejumlah substrat bahan makanan untuk difermentasi. Substrat bahan makanan tersebut diperlukan agar mikroba probiotik dapat berkembang dengan baik. Substrat bahan makanan yang mendukung perkembangan mikroba probiotika dalam saluran pencernaan disebut "prebiotik" (Patterson and Burkholder, 2003).

### 3. Menstimulasi mukosa dan meningkatkan sistem kekebalan hewan inang.

Mikroorganisme probiotik mampu mengatur beberapa aspek dari sistem kekebalan hewan inang. Kemampuan mikroba probiotik mengeluarkan toksin yang menghambat perkembangan mikroba patogen dalam saluran pencernaan, merupakan suatu kondisi yang dapat meningkatkan kekebalan hewan inang. Toksin yang dihasilkan tersebut merupakan antibiotika bagi mikroba-mikroba patogen, sehingga penyakit yang ditimbulkan oleh mikroba patogen tersebut akan berkurang dan dapat

hilang atau sembuh dengan sendirinya. Hal ini akan memberikan keuntungan terhadap kesehatan hewan inang sehingga tahan terhadap serangan penyakit.

Salminen dkk (1999) menyatakan, probiotik adalah sediaan sel mikroba hidup atau komponen dari sel mikroba hidup yang memiliki pengaruh menguntungkan terhadap kesehatan dan kehidupan inangnya. Probiotik memberikan kontribusi terhadap kesehatan ternak melalui mekanisme berkompetisi dengan bakteri patogen, menstimulasi sistem imun, memproduksi asam lemak rantai pendek, mengontrol fungsi usus, meningkatkan pencernaan dan penyerapan zat-zat nutrisi ( Zigger, 2000; Jung dkk, 2008).

Menurut Yeo dan Kim (1997), mekanisme kerja probiotik antara lain melakukan perubahan flora dalam usus halus, meningkatkan pertumbuhan bakteri non patogenik anaerobik fakultatif, membentuk asam laktat dan hidrogen peroksida, menekan pertumbuhan patogen dalam usus halus, meningkatkan kecernaan dan pemanfaatan nutrisi. Selain itu probiotik juga menyediakan enzim yang mampu mencerna serat kasar, protein, lemak dan meningkatkan proses absorpsi dalam usus (Waspodo, 2001). Penggunaan probiotik pada ternak unggas dilaporkan dapat menurunkan aktivitas urease, suatu enzim yang bekerja menghidrolisis urea menjadi amonia sehingga pembentukan amonia menjadi berkurang. Amonia adalah suatu bahan yang dapat menyebabkan keracunan pada ternak unggas (Yeo and Kim, 1997).

#### D. Peranan Probiotik BAL pada Ayam

Beberapa manfaat yang ditimbulkan dari pemberian probiotik dalam campuran pakan terhadap ayam antara lain mampu menyeimbangkan populasi mikrobia pada saluran gastrointestinal yang berperan untuk menormalkan sistem digesti dan menjaga kesehatan ternak karena probiotik BAL memiliki kemampuan memproduksi asam laktat dan asam asetat di usus yang akan menyebabkan usus menjadi asam, sehingga mampu mencegah kolonisasi bakteri patogen pada usus seperti *Escherechia coli* dan *Clostridium perfringes* penyebab radang usus (Djouvinof dkk., 2005). BAL turut berperan serta dalam dekomposisi nutrien, produksi enzim, asam amino, dan vitamin ( Ramirez dan Dixon, 2003).

BAL telah lama digunakan sebagai probiotik, termasuk didalamnya jenis *Lactobacillus bulgaricus*, *L. Acidophilus*, *L. Sporogenes*, *L. Casei*, *L.plantarum*, dan *Streptococcus* (Venkat dkk., 2004). Nurhayati (2003) melaporkan bahwa, BAL SU5 yang didapat dari usus ayam kampung berpotensi sebagai probiotik karena dapat menghasilkan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, tahan terhadap pH asam, tahan terhadap getah lambung dan garam empedu, serta tahan terhadap udara terbuka.

Arslan (2004) melaporkan, BAL *Lactobacillus bulgaricus* dosis  $1 \times 10^7$ /g ransum dapat mempengaruhi berat badan dan menurunkan konsumsi pakan broiler. Pemberian multi spieses probiotik (MSPB) yang

mengandung strain *Lactobacillus acidophilus* W55, *Lactobacillus salivarius* W57, *Lactobacillus casei* W56, *Lactobacillus lactis* W58, dan *Enterococcus faecium* W54 tidak mempengaruhi kenaikan berat badan dan konversi pakan tetapi mampu menurunkan angka kematian ayam broiler (Timmerman dkk., 2006).

Denli, dkk (2003) menyatakan bahwa pemberian protexin dosis  $6 \times 10^7$ /g (strain *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus thermophilus*, *Aspergillus orizae*, *Bifidobacterium bifidum*, dan *Candida pintolepesii*) mampu menurunkan berat lemak abdomen, tetapi tidak mempengaruhi kenaikan berat badan, konsumsi pakan, konversi pakan, dan berat karkas. Pemberian Vebac (bakteri *Enterococcus faecium* M74) dalam ransum broiler dengan dosis  $5 \times 10^9$ /g ransum mampu meningkatkan konsumsi ransum, meningkatkan pertambahan bobot badan, serta mampu memperbaiki konversi pakan (Kralik dkk, 2004).

Mekanisme kerja probiotik dalam memperbaiki efisiensi konversi pakan antara lain melakukan perubahan mikroflora dalam saluran usus, meningkatkan pertumbuhan bakteri non patogenik anaerobik fakultatif, menekan pertumbuhan patogen dalam usus halus, meningkatkan pencernaan dan pemanfaatan nutrisi, serta menjaga kesehatan ternak (Yeo dan Kim, 1997; Djouvinov dkk, 2005).

Pemberian probiotik pada broiler dilaporkan dapat memperbaiki pertumbuhan, angka konversi serta meningkatkan ketersediaan vitamin dan zat makanan lain. Penggunaan probiotik dalam pakan sebagai pengganti antibiotika yang digunakan sebagai *growth promoter* dalam produksi broiler sehingga broiler aman untuk dikonsumsi manusia. Selain itu probiotik mampu menurunkan populasi bakteri patogen di dalam saluran cerna yang dapat menyebabkan penyakit (Ahmad, 2006).

Bakteri asam laktat dengan aktivitas probiotiknya berperan penting dalam mengatur ekosistem saluran pencernaan. Aktivitas probiotik terbagi atas 3 spektrum, yaitu 1). Aspek nutrisi yaitu berupa penyediaan enzim untuk membantu metabolisme komponen makanan (*laktase*), sintesis beberapa jenis vitamin (vitamin K, folat, piridoksin, pantotenat, biotin dan riboflavin) dan menghilangkan racun bagi metabolit komponen makanan di dalam usus. 2). Aspek fisiologi meliputi kemampuan menjaga keseimbangan komposisi mikroflora usus dan menstimulasi sistem kekebalan usus. 3). Efek antimikroba meliputi kemampuan untuk memperbaiki ketahanan terhadap bakteri patogen (Naidu dan Clemens, 2000).

Penggunaan probiotik terhadap performan broiler signifikan meningkatkan penambahan berat badan dan memperbaiki konversi pakan, namun tidak berpengaruh terhadap konsumsi pakan (Budiarto, 2006).

Panda dkk (2003) melaporkan, pemberian probiotik (probiolac pada taraf 100 mg/kg ransum) dapat memperbaiki produksi telur, berat kerabang dan tebal kerabang telur serta menurunkan kadar kolesterol pada kuning telur. Penggunaan probiotik starbio pada ayam buras dapat meningkatkan produksi telur karena adanya mikrobial di dalam probiotik yang berfungsi sebagai enzim proteolitik (pengurai protein) maupun lignolitik (pengurai serat kasar) sehingga pakan menjadi lebih tersedia digunakan oleh ayam (Gunawan dan Sundari, 2003).

Meskipun beberapa hasil penelitian menunjukkan pengaruh positif probiotik terhadap penampilan produksi broiler, namun hasil penelitian Gunal dkk (2006) melaporkan bahwa pemberian probiotik protexin (mengandung strain *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Aspergillus oryzae*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, dan *Candida pintolepesii*) dengan konsentrasi  $6 \times 10^7$ /g tidak berpengaruh terhadap kenaikan berat badan, konsumsi pakan, konversi pakan, dan mortalitas.

Pemberian probiotik pada broiler sebaiknya dilakukan selama 3 minggu pertama pemeliharaan (Yeo and Kim, 1997). Menurut Wahyudi dan Samsundari (2008), keuntungan dalam mengkonsumsi bakteri probiotik adalah :

1. Meningkatkan pertumbuhan inang. Peningkatan pertumbuhan terjadi sebagai hasil dari penurunan infeksi subklinis akibat tertekannya pertumbuhan mikroorganisme penyebab penyakit.
2. Memperbaiki penggunaan nutrisi makanan melalui peningkatan efisiensi proses pencernaan atau peningkatan kecernaan senyawa-senyawa yang awalnya tidak tercerna.
3. Meningkatkan kesehatan inang melalui resistensi inang terhadap penyakit infeksi baik secara langsung melalui mekanisme antagonis maupun melalui status kekebalan.

#### **E. Peranan Probiotik BAL terhadap Penurunan Kolesterol**

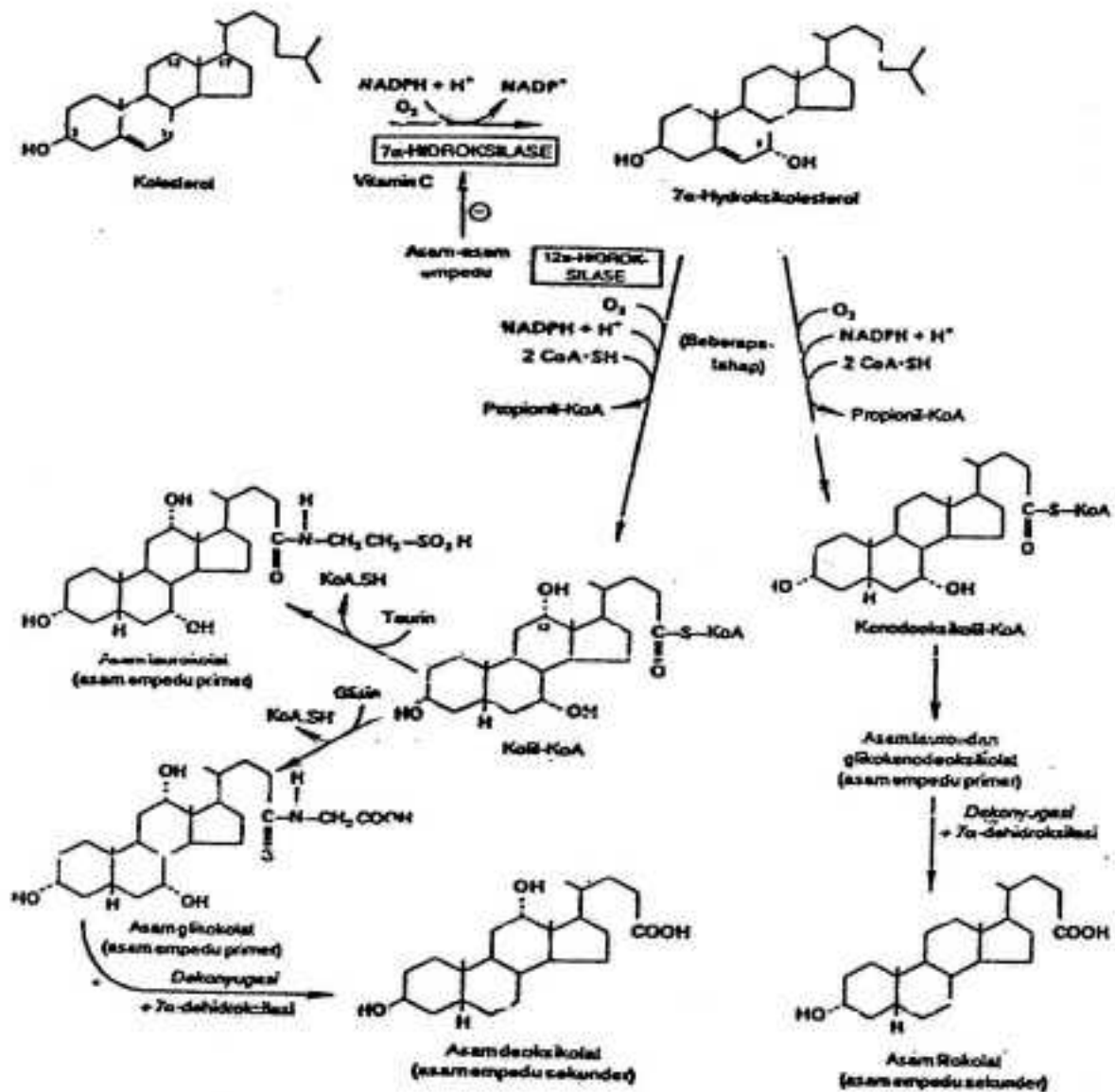
Penelitian yang terkait dengan probiotik BAL yang berpotensi untuk menurunkan kolesterol telah banyak dilakukan. Kusumawati, dkk (2003) melaporkan bahwa pemberian susu yang difermentasi oleh BAL mampu menurunkan total kolesterol serum darah tikus sampai 22-28% dibandingkan tikus kontrol. Daud, dkk (2007) melaporkan bahwa pemberian *Bacillus spp* dalam ransum ayam pedaging umur 6 minggu mampu mengurangi kadar kolesterol daging. Liong dan Shah (2005) melaporkan *Lactobacillus acidophilus* ATCC 33200, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4536 dan *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4962 serta *Lactobacillus casei* ASCC 1521 mempunyai kemampuan mendekonyugasi garam empedu yang berpengaruh terhadap penurunan kolesterol.



BAL dalam saluran pencernaan mempunyai kemampuan dalam menurunkan kolesterol di dalam tubuh inangnya melalui dua cara yaitu asimilasi kolesterol dan dekonyugasi garam empedu. Pada mekanisme asimilasi kolesterol, BAL akan mengambil atau menyerap kolesterol misel yang ada pada lumen usus selanjutnya kolesterol akan berinkorporasi pada membran seluler bakteri dan menyebabkan kolesterol tidak terabsorpsi oleh dinding usus tetapi justru keluar melalui feses, yang akan berakibat turunnya kadar kolesterol dalam tubuh. Sedangkan mekanisme penurunan kolesterol secara tidak langsung yaitu melalui dekonjugasi garam empedu dan terjadi selama siklus enterohepatik. Dekonyugasi garam empedu menyebabkan peningkatan pembentukan asam empedu baru untuk mengganti yang terbuang pada siklus enterohepatik (Harmayani dkk., 2003; Liong dan Shah, 2005; Gilliland, 1990; Sanders, 2000).

Kemampuan BAL dalam mendekonyugasi garam empedu karena adanya aktivitas enzim BSH (*bile salt hidrolase*) yang dihasilkan oleh BAL yang mampu mendekonyugasi garam empedu primer menjadi asam empedu sekunder yang akan terbuang ke dalam feses, sehingga jumlah asam empedu yang dapat diabsorpsi kembali untuk sintesa garam empedu menjadi berkurang. Pembentukan asam empedu membutuhkan kolesterol sebagai prekursor, sehingga dekonyugasi garam empedu secara tidak langsung akan berpengaruh terhadap penurunan kolesterol (Moser dan Savage, 2001).

Mekanisme dekonyugasi garam empedu terjadi secara tidak langsung selama siklus enterohepatik atau siklus absorpsi lemak dari usus dan berkaitan dengan efek penurunan kolesterol (Gambar 4).



Gambar 4. Biosintesis dan degradasi asam-asam empedu (Mayes, 1995)

## F. Biosintesis Kolesterol

Kolesterol memiliki formula  $C_{27}H_{45}OH$  dan dapat dinyatakan sebagai 3 hidroksi-5,6 kolesten, karena mempunyai satu gugus hidroksil pada atom  $C_3$  dan ikatan rangkap pada  $C_5$  dan  $C_6$ , serta pada percabangan pada  $C_{10}$ ,  $C_{13}$  dan  $C_{17}$  (Mayes, 1995). Kolesterol dalam tubuh berasal dari dua sumber yaitu dari makanan yang disebut kolesterol eksogen dan diproduksi sendiri oleh tubuh yang disebut kolesterol endogen (Piliang dan Djojosoebagio 2004), selanjutnya dikatakan kolesterol disintesis dalam tubuh, terutama oleh sel-sel hati, usus halus dan kelenjar adrenal. Meskipun seluruh sel-sel mempunyai kemampuan untuk menghasilkan sterol tetapi yang paling aktif adalah hati.

Didalam tubuh tidak dapat dibedakan kolesterol yang berasal dari sintesis dalam tubuh dan kolesterol yang berasal dari makanan. Kolesterol yang terdapat dalam makanan memegang peran penting karena merupakan sterol utama didalam tubuh manusia serta komponen membran sel dan membran intra seluler. Jika jumlah kolesterol dari makanan kurang, maka sintesis kolesterol di dalam hati dan usus meningkat untuk memenuhi kebutuhan jaringan dan organ lain. Sebaliknya jika jumlah kolesterol di dalam makanan meningkat maka sintesis kolesterol di dalam hati dan usus menurun ( Muchtadi dkk, 1993).

Fungsi kolesterol dalam tubuh adalah sebagai prekursor pembentuk asam empedu oleh hati, untuk pembentukan hormon-hormon steroid, seperti glukokortikoid dan aldosteron dalam gonad, merupakan

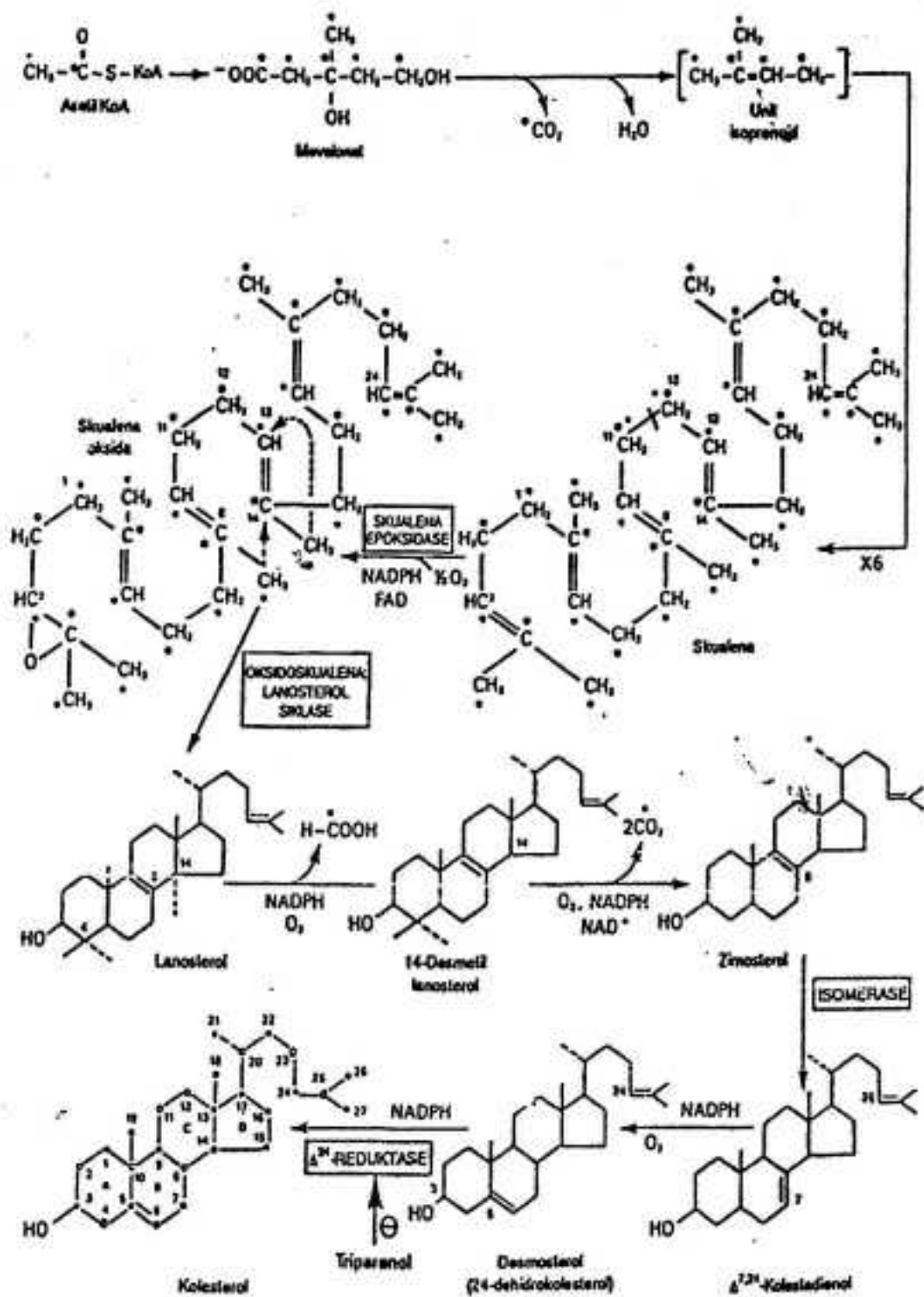
unsur penting pada dinding sel. Selain itu, di dalam tubuh kolesterol merupakan prazat semua senyawa steroid, seperti kortikosteroid dan vitamin D (Mayes, 1995). Kolesterol juga membantu sel syaraf dalam menjalankan fungsinya. Tanpa kolesterol, koordinasi gerak tubuh dan kemampuan seseorang untuk berbicara akan terganggu.

Kolesterol tidak larut dalam sistem larutan, karena itu harus diangkut melalui lipoprotein. Lipoprotein adalah suatu senyawa yang terdiri dari protein, fosfolipida, lemak netral, kolesterol bebas dan kolesterol ester. Dalam plasma darah terdapat lima golongan lipoprotein yaitu kilomikron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *low density lipoprotein* (LDL) dan *high density lipoprotein* (HDL). Fungsi masing-masing lipoprotein plasma dijelaskan oleh Piliang dan Djojosoebagio (2004). Kilomikron, lipoprotein dengan densitas terendah mempunyai fungsi utama untuk mengangkut trigliserida dan juga membawa sebagian kolesterol. VLDL, berfungsi sebagai pembawa trigliserida yang dibawa dari hati ke jaringan-jaringan lain dalam tubuh, terutama jaringan adiposa untuk disimpan. LDL berfungsi mengangkut kolesterol, yaitu lebih dari setengahnya dalam bentuk kolesterol ester. HDL untuk mengangkut fosfolipida dan kolesterol ester dari jaringan perifer kembali ke hati untuk diubah menjadi asam empedu. Lipoprotein yang paling berperan dalam pengangkutan kolesterol adalah HDL dan LDL. HDL berperan dalam pengangkutan kolesterol yang terdapat pada perifer ke hati, selanjutnya dapat dikeluarkan melalui usus, sedangkan

LDL membawa kolesterol ke perifer. Semakin meningkat kadar LDL, semakin banyak tumpukan kolesterol di dinding pembuluh darah.

Muchtadi dkk (1993) menjelaskan bahwa, jalur utama pembuangan kolesterol dari tubuh adalah melalui konversi oleh hati menjadi asam empedu, yaitu asam kolat dan kenodeoksikolat yang berikatan dengan glisin dan taurin membentuk garam empedu, kemudian diekskresikan di dalam empedu ke dalam duodenum bersama-sama dengan kolesterol bebas. Sebagian besar asam empedu direabsorpsi oleh hati melalui sirkulasi, dan selanjutnya diekskresikan kembali ke dalam empedu. Asam empedu yang tidak diserap didegradasi oleh mikroba usus besar dan diekskresikan ke dalam feses.

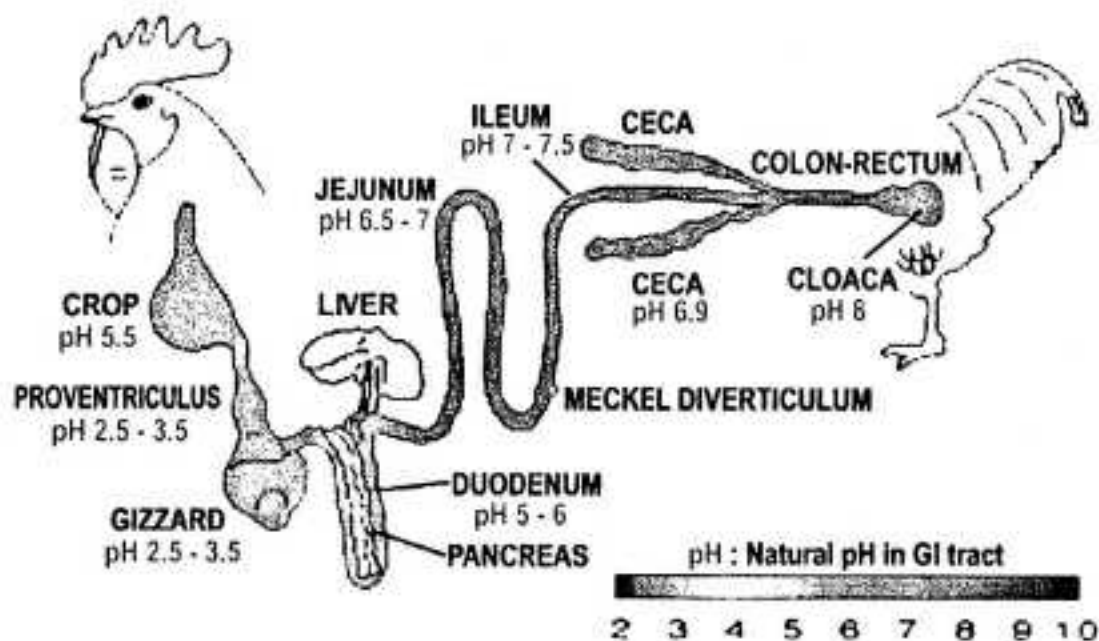
Biosintesis kolesterol dapat dibagi menjadi 5 tahap, yaitu (1) Sintesis mevalonat, suatu senyawa 6 karbon dari asetil-KoA, terbentuk akibat reaksi kondensasi dan reduksi yang berlangsung di dalam mitokondria; (2) Unit isoprenoid dibentuk dari mevalonat melalui pelepasan CO<sub>2</sub>, pada reaksi fosforilasi oleh ATP; (3) Enam unit isoprenoid mengadakan kondensasi untuk membentuk senyawa antara skualena; (4) Skualena mengadakan siklisasi untuk menghasilkan senyawa steroid induk yaitu lanosterol, yang berlangsung di dalam retikulum endoplasma; (5) kolesterol dibentuk di dalam membran retikulum endoplasma dari lanosterol setelah melewati beberapa tahap, termasuk pelepasan 3 gugus metil (Mayes, 1995).



Gambar 5. Biosintesis Kolesterol (Mayes, 1995)

## G. Sistem Pencernaan Ayam

Pencernaan adalah penguraian bahan makanan ke dalam zat-zat makanan dalam saluran pencernaan untuk dapat diserap dan digunakan oleh jaringan-jaringan tubuh. Saluran pencernaan dari semua hewan dapat dianggap sebagai tabung yang dimulai dari mulut sampai anus yang fungsinya dalam saluran pencernaan adalah mencernakan dan mengabsorpsi makanan dan mengeluarkan sisa makanan sebagai tinja. Sistem pencernaan terdiri dari saluran pencernaan dan organ-organ pelengkap, berperan dalam proses perombakan bahan makanan, baik secara fisik, maupun kimia menjadi zat-zat makanan dan siap diserap oleh dinding saluran pencernaan. (Tillman, dkk., 1998).



Gambar 6. Sistem saluran pencernaan pada broiler (Gauthier, 2002)

Saluran pencernaan pada broiler terdiri dari mulut, kerongkongan, tembolok, proventrikulus, rempela, usus halus, usus buntu, usus besar, kloaka dan anus (North dan Bell, 1990). Saluran-saluran pencernaan pada broiler terdiri dari mulut, esophagus, proventriculus, ventriculus, usus halus, ceca, usus besar, dan kloaka. Unggas menimbun makanan yang dimakannya dalam tembolok, suatu ventrikulum (pelebaran) esophagus yang tak terdapat pada ternak non-ruminansia lain, kemudian makanan tersebut dilunakkan sebelum masuk ke proventrikulus (Blakely dan Bade, 1998).

Prinsip pencernaan makanan pada ayam menurut Anggorodi (1985) ada 3 macam yaitu: (1) pencernaan secara fisik (mekanik), pencernaan ini dilakukan dengan bantuan kontraksi otot polos terutama terjadi pada bagian gizzard (empela). (2) pencernaan secara enzimatik (kimiawi) yang dilakukan dengan bantuan enzim pencernaan antara lain enzim yang dihasilkan oleh proventrikulus, enzim dari pankreas, enzim empedu dari hati dan enzim-enzim yang ada di usus halus. (3) pencernaan secara mikrobiologik.

Ayam mempunyai lambung yang terdiri dari dua bagian yaitu bagian pertama adalah proventrikulus (lambung kelenjar) yang menghasilkan getah lambung yang mengandung lendir, HCL, dan enzim pencernaan sehingga mampu melakukan pencernaan secara enzimatik. Bagian kedua adalah ventrikulus (lambung otot) biasa juga disebut empela yang tidak menghasilkan getah lambung, namun memiliki otot dinding



yang kuat sehingga dapat membantu pencernaan secara mekanik (Zuprizal, 2006).

Usus halus merupakan organ utama tempat berlangsungnya pencernaan dan absorpsi produk pencernaan. Berbagai enzim yang masuk ke dalam saluran pencernaan ini berfungsi mempercepat dan mengefisienkan pemecahan karbohidrat, protein, dan lemak untuk mempermudah proses absorpsi. Secara anatomis, usus halus dibagi menjadi tiga bagian yaitu, duodenum, jejunum, dan ileum. Sepanjang permukaan lumen usus terdapat banyak sekali vili. Setiap vilus mengandung pembuluh limfe yang disebut lakteal dan pembuluh kapiler. Pada permukaan vili terdapat banyak mikrovili yang berfungsi melakukan absorpsi hasil pencernaan (Suprijatna dkk, 2005).

Menurut Schabile (1980) di dalam Sjojfan (2003), pH bagian saluran pencernaan mempunyai pengaruh terhadap kehidupan mikroba pencernaan yang erat sekali hubungannya dengan produk enzim pencernaan maupun produk mikroorganisme dari pakan.

#### **H. Mikroflora Saluran Pencernaan Ayam**

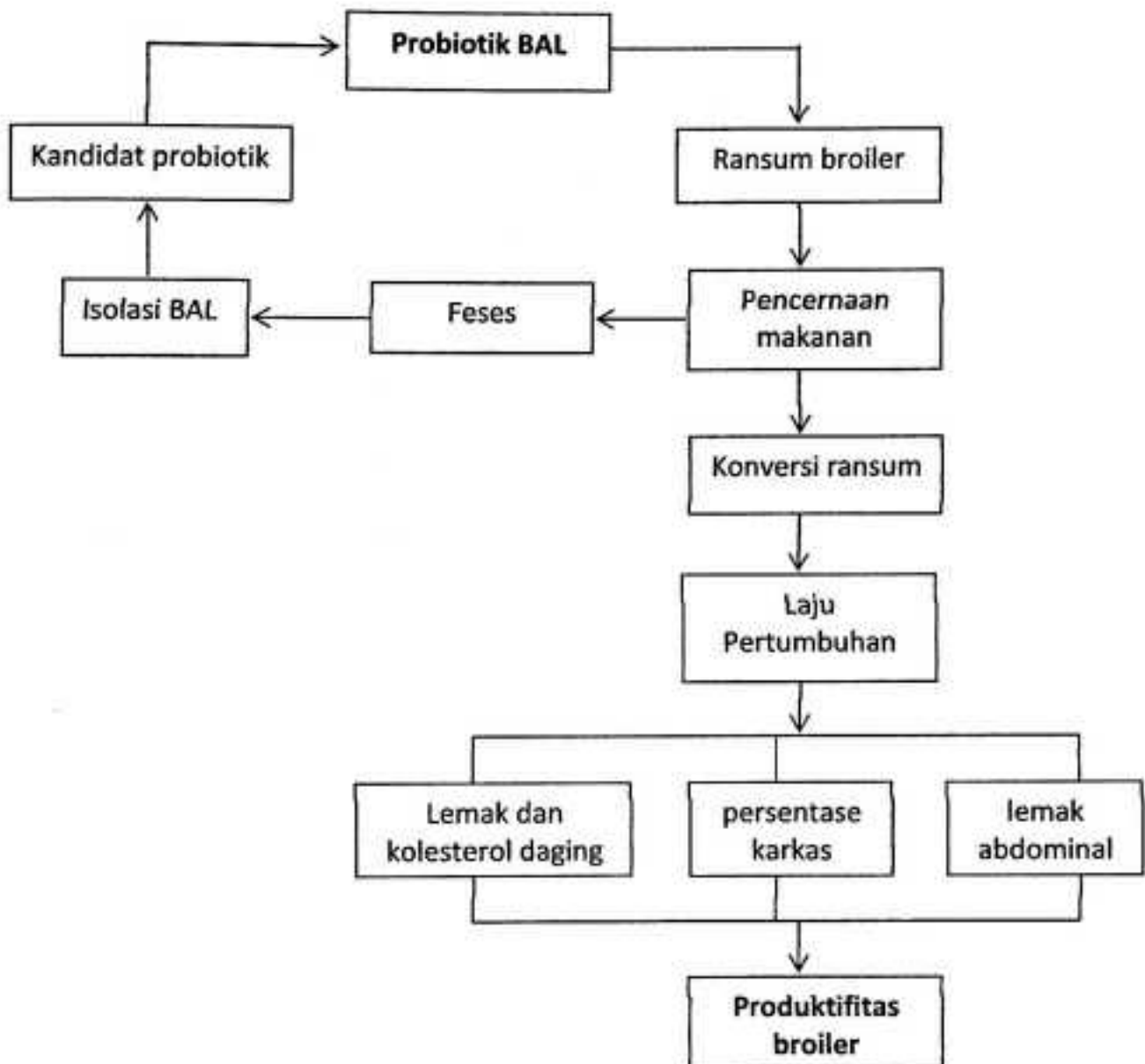
Saluran pencernaan ternak merupakan tempat tinggal mikroflora indogenous dan terbentuk setelah ternak lahir. Mikroflora indogenous pada ternak membentuk suatu sistem mekanisme penghambatan yang digunakan untuk melawan mikroorganisme patogen seperti *Salmonella spp* dan *Eschericia coli*. Bakteri di dalam saluran pencernaan banyak

sekali, tetapi pada umumnya adalah bakteri *Eschericia coli*, *Clostridia sp*, *Enterococci sp*, *Lactobacilli sp*, dan khamis. Pada caecum dan feces juga ditemukan bakteri anaerob obligat dan *Streptococci sp*, serta bakteri lain yang bersifat anaerob fakultatif. Pada daerah tembolok dan gizzard tidak terdapat *Clostridia sp*, karena lingkungan asam pada kedua organ tersebut ( Sjojfan, 2003).

Populasi bakteri tergantung pada keasaman (pH) masing-masing saluran pencernaan. *Eschericia coli* dan *Enterococci* banyak ditemukan pada ayam muda. Jenis bakteri pada saluran pencernaan unggas yang dominan pada crops, proventriculus, dan gizzard adalah *Lactobacilli*, kemudian diikuti oleh *Streptococcus* dan *Califorms*. Pada daerah duodenum dan usus halus, bakteri yang jumlahnya banyak adalah *Lactobacilli*, *Streptococcus*, *Califorms*. Kemudian di ceca jenis bakteri yang dominan adalah *Bacteroides*, *Bifidobacteria*, *Streptococci*, *Clostridis*, *Eubacteria*. Pada colon dan kloaka adalah *Lactobacilli*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Bifidobacteria*, *Clostridia*, *Eubacteria* (Spring, 1997).

Bakteri yang umum terdapat dalam saluran pencernaan ayam adalah *Bacteroides sp*, *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium bifidus*, *Clostridium perfringes*, *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium sp*, *Eubacterium sp*, *Fusobacterium sp*, *Gemmeger formicilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentatum*, *Lactobacillus salivarius*, *Micrococcus sp*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis*, *Ruminicoccus obeum* (Wu, 1987 dalam Shin, 1996).

## I. Kerangka Konseptual



## **J. Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan landasan teori diatas, maka hipotesis dari penelitian ini diduga bahwa :

1. BAL yang diisolasi dari feses broiler berpotensi sebagai probiotik.
2. Pemberian BAL hasil isolasi dari feses broiler dalam ransum broiler, mampu memperbaiki produktivitas broiler lebih baik dibanding tanpa pemberian BAL.
3. Pemberian BAL hasil isolasi dari feses broiler dalam ransum broiler, mampu menggantikan fungsi antibiotika dalam memperbaiki produktivitas broiler.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### **Tahap I. Isolasi dan karakterisasi BAL dari feses broiler**

Penelitian tahap pertama mencakup isolasi BAL yang berasal dari feses broiler dan karakterisasi BAL dengan melakukan uji pengecatan Gram, uji morfologis, uji katalase, dan uji tipe fermentasi.

#### **Tahap II. Seleksi BAL dari feses broiler sebagai kandidat probiotik**

Pada tahap seleksi ini isolat yang dipilih adalah isolat yang menghasilkan uji pewarnaan Gram positif, uji katalase negatif dan tipe homofermentatif. Selanjutnya diseleksi dengan melakukan uji antimikroba terhadap bakteri patogen *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 yang mewakili bakteri Gram negatif dan bakteri *Stapylococcus aureus* ATCC 25293 yang mewakili bakteri Gram positif. Uji ketahanannya terhadap kondisi di dalam saluran pencernaan meliputi uji ketahanan terhadap suhu, uji ketahanan terhadap pH asam, dan uji ketahanan terhadap garam empedu.

#### **Tahap III. Pengaruh isolat BAL terpilih terhadap produktivitas broiler**

Isolat BAL yang terpilih dari seleksi pada tahap kedua diidentifikasi lebih lanjut untuk menentukan spesies isolat dengan menggunakan API 50 CHL (*bioMerieux, Marcy l'Etoile, France*), selanjutnya dilakukan

produksi atau pembuatan tepung probiotik dari isolat BAL terpilih dengan menggunakan metode *freezer drying* yang kemudian diaplikasikan kepada broiler dengan dosis yang berbeda untuk mengetahui pengaruhnya terhadap penampilan produksi (konsumsi ransum, penambahan bobot badan, konversi ransum, persentase karkas, persentase lemak abdominal, dan Indeks produksi), kualitas daging (kandungan lemak dan kandungan kolesterol daging broiler) serta kandungan kolesterol serum darah, HDL, LDL darah, dan kolesterol ekskreta.

#### **A. Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2011 sampai bulan November 2011. Penelitian Tahap pertama dan kedua dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Pengelolaan Hasil Perikanan Politeknik Negeri Pangkep. Penelitian tahap ketiga dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian IPB untuk identifikasi BAL terpilih, laboratorium PAU IPB untuk proses pembuatan tepung probiotik dengan metode *freezer drying*, dan laboratorium Pakan Terpadu serta laboratorium Kimia dan Makanan ternak Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin untuk pemeliharaan broiler.

Analisis kandungan lemak daging dada dan paha broiler dilakukan di laboratorium TPHP politani Pangkep, analisis kandungan kolesterol daging dada dan kolesterol daging paha serta kolesterol ekskreta broiler dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar. Analisis kandungan kolesterol serum darah, HDL, dan LDL dilakukan di laboratorium klinik Permai Bestari Makassar.

## B. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian tahap isolasi BAL adalah feses broiler yang dipelihara tanpa pemberian antibiotika, MRSB (*deMan Rogosa and Sharp Broth*, Oxoid, England), MRSA (*deMan Rogosa and Sharp Agar*, Oxoid, England), BPW (*Buffer peptone water*, Merck, Germany). Bahan yang digunakan untuk seleksi BAL sebagai probiotik adalah reagen untuk pewarnaan Gram yaitu kristal violet, garam yodium, alkohol aseton dan safranin yang merupakan produk dari Sigma, bahan uji katalase yaitu  $H_2O_2$  3%, bahan uji produksi asam laktat terdiri dari medium sintetik (100 ml yang terdiri dari 50 g glukosa/ 1000 ml, 0,4% urea, 0,1 %  $KH_2PO_4$ , 0,05%  $MgSO_4$ , 0,001%  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,05% KCL, dan yeast ekstrak 0,05%), NaOH 0,0093 N.

Bahan untuk uji aktivitas antimikroba patogen digunakan media MRSB, media NA (*Nutrien Agar*, Oxoid), NB (*Nutrien Broth*), isolat *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 (Gram negatif) dan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 (Gram positif) yang diperoleh dari

Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Farmasi UNHAS. Bahan untuk uji ketahanan terhadap kondisi saluran pencernaan digunakan media MRSB, MRSA, HCl 4N, garam oxgall 0,3 % (Sigma), dan BPW.

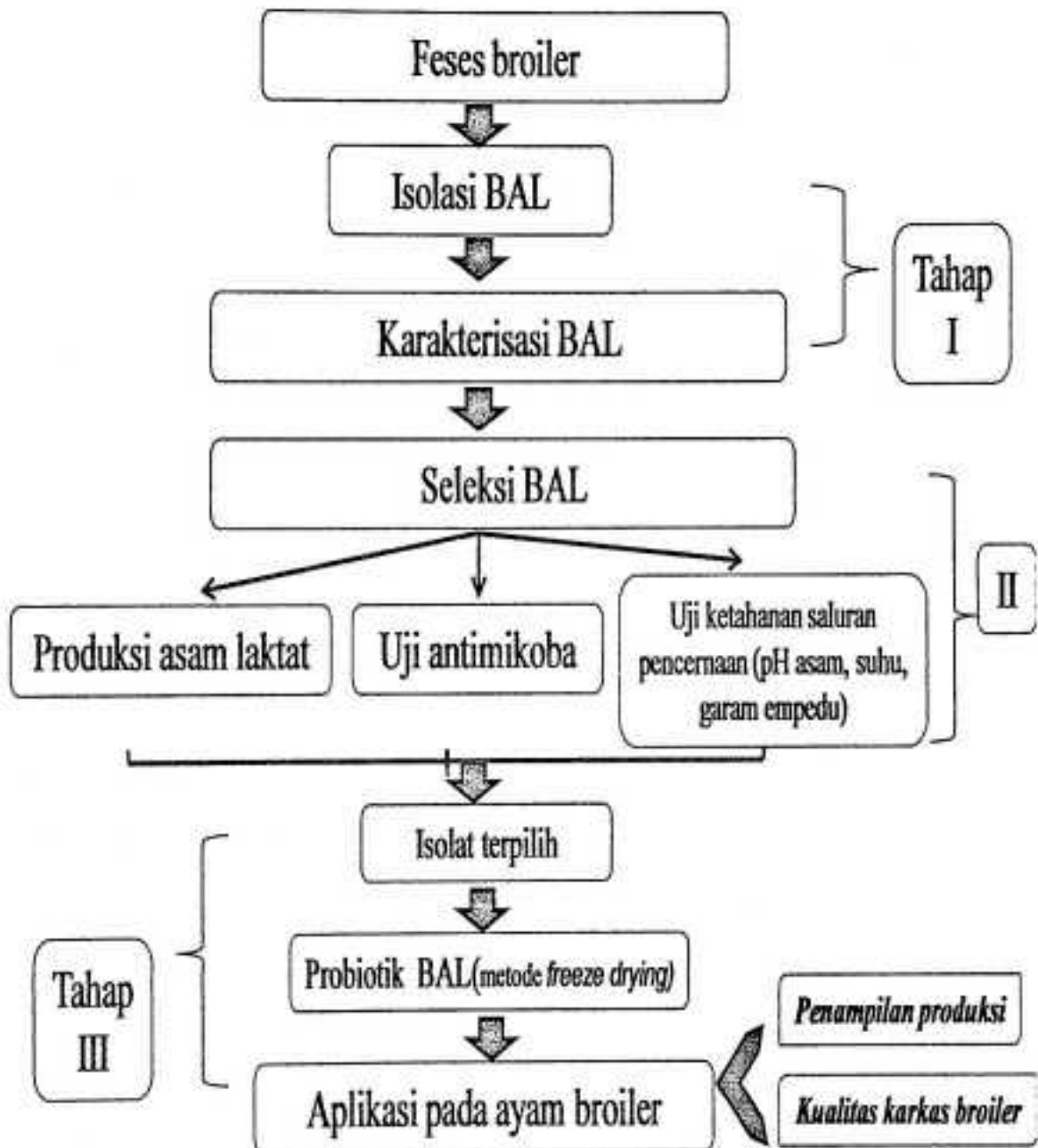
Pengujian secara *in vivo* kemampuan BAL terpilih terhadap produktivitas broiler digunakan DOC jenis kelamin campuran (*unsexed*) strain *lohman 202* produksi *PT.Multibreeder Adirama Indonesia*. Bahan yang digunakan dalam menyusun ransum terdiri dari jagung kuning, dedak padi, tepung ikan, bungkil kedelai, dan bungkil kelapa.

Peralatan utama yang digunakan dalam penelitian ini meliputi; spektrofotometer, autoklaf, inkubator CO<sub>2</sub>, timbangan analitik, refrigerator, vortex, pipet mikro, bunsen, sentrifus, pH meter, pinset, mikroskop olimpus medan terang, stomecher, tabung hungate, tabung Durham, tabung elemeyer 50 ml tutup asa, loop inoculation (ose,) YAMATA *freeze drying* dan cabinet laminar. Pemeliharaan ayam selama penelitian digunakan kandang yang dilengkapi tempat makan dan minum, lampu penghangat (lampu pijar 60 watt), timbangan, alat pencampur pakan dan perlengkapan kandang.



### C. Pelaksanaan Penelitian

Alur penelitian dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 7. Alur Penelitian

## **C.1. Isolasi dan karakterisasi BAL dari feses broiler**

### **C.1.1. Isolasi BAL (Alander dkk., 1999)**

Isolasi mikroba merupakan upaya pemisahan mikroba jenis tertentu dari populasi campuran mikroba yang lain. Isolasi BAL dari feses broiler bertujuan untuk mendapatkan isolat BAL dari feses broiler yang mengandung campuran mikroba. Koloni BAL dikenali dengan munculnya zona bening disekeliling koloni bakteri pada media MRSA + CaCO<sub>3</sub> 1%. Selanjutnya dilakukan purifikasi atau pemurnian pada masing-masing koloni yang memiliki kenampakan yang berbeda hingga diperoleh isolat murni. Proses isolasi BAL yang bersumber dari feses broiler adalah sebagai berikut :

Feses segar broiler berumur 3 minggu yang dipelihara dengan pemberian ransum sesuai dengan ransum penelitian diambil secara aseptis sebanyak 25 g, kemudian dimasukkan ke dalam 225 ml larutan pengencer BPW steril (*Buffer pepton Water* produksi Merck) dan dihomogenisasi dengan stomacher selama 30 detik dengan kecepatan 230 rpm. Selanjutnya dilakukan pengenceran 10<sup>-1</sup> -10<sup>-8</sup>. Isolasi bakteri dilakukan penanaman pada pengenceran 10<sup>-7</sup> dan 10<sup>-8</sup> sebanyak 1 ml kedalam petri steril, kemudian dituangi MRSA (Oxoid) + CaCO<sub>3</sub> 1% kurang lebih 15-20 ml suhu kurang lebih 45<sup>0</sup>C dan dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat dan diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 48 jam dalam kondisi anaerob. Koloni bakteri asam laktat pada media

agar plate MRS + CaCO<sub>3</sub> 1% dikenali dengan munculnya zona jernih disekeliling koloni bakteri.

Selanjutnya dipilih koloni yang mempunyai morfologi berbeda satu sama lainnya. Pengamatan terhadap morfologi koloni meliputi warna, bentuk koloni, tepian koloni, elevasi koloni. Koloni terpilih dari hasil kultur bakteri diisolasi dengan metode goresan kuadran pada cawan petri yang berisi media MRS + CaCO<sub>3</sub> 1% . Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Isolasi dilakukan beberapa kali sampai dihasilkan isolat murni. Untuk mengetahui kemurnian isolat dapat dilakukan dengan cara pewarnaan Gram, apabila sudah tidak tercampur lagi antara Gram positif dan Gram negatif maka dapat dinyatakan bahwa isolat tersebut telah murni. Isolat yang sudah murni dibuat kultur kerja dan kultur stok. Isolat murni kemudian diidentifikasi berdasarkan karakteristik BAL.

### **C.1.2. Karakterisasi BAL**

Karakterisasi terhadap isolat BAL bertujuan untuk mengetahui sifat morfologi dan fisiologisnya. Sifat morfologi yang diamati yaitu bentuk sel dan pengecatan Gram, Sedangkan pengamatan sifat fisiologis bakteri dilakukan uji katalase dan uji tipe fermentatif. Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif, berbentuk batang atau bulat, katalase negatif dan berdasarkan kemampuannya dalam metabolisme glukosa dan produk akhir yang dihasilkan, bakteri asam laktat dibagi menjadi dua kelompok yaitu homofermentatif dan heterofermentatif ( Axelsson, 1998).

### C.1.2.1. Pewarnaan Gram (AOAC, 1995)

Pewarnaan gram bertujuan untuk melihat bentuk sel dan sifat Gram. Pewarnaan gram dilakukan menurut metode standar (AOAC, 1995) sebagai berikut :

Gelas obyek dibersihkan dengan alkohol hingga bebas lemak, kemudian difiksasi diatas nyala api bunsen. Secara aseptis 1 ose bakteri isolat diambil dari biakan murni agar miring dan diletakkan pada gelas obyek dan dibuat suspensi bakteri diatas obyek gelas dengan setetes aguades dan diratakan seluas  $\pm 1\text{cm}^2$ , selanjutnya dilakukan pengeringan dengan cara fiksasi di atas nyala api bunsen. Setelah dingin ditambah cat utama yaitu larutan Hucker's crystal violet sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir, kemudian dikering anginkan. Selanjutnya ditetesi dengan larutan Mordan Lugol's Iodine dan dibiarkan selama 1 menit, gelas obyek dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, kemudian dicuci dengan alkohol 95% selama 30 detik dan dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan.

Gelas obyek diberi larutan cat penutup yaitu larutan cat safranin selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan. Preparat diamati dengan mikroskop perbesaran 10x100 dengan minyak imersi. Bakteri Gram positif berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif akan ditandai dengan warna merah atau merah muda.

### **C.1.2.2. Uji katalase (AOAC, 1995)**

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui adanya enzim katalase pada isolat bakteri uji dengan menggunakan pereaksi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Bakteri yang memiliki enzim katalase mampu mengurai  $H_2O_2$  yang menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Uji katalase dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

Sebanyak 1 ose kultur BAL berumur 24 jam pada biakan murni MRSA miring diambil secara aseptis dan dipindahkan di atas gelas obyek, kemudian ditetesi larutan  $H_2O_2$  3% (1-2 tetes) dan diamati reaksi yang terjadi. Jika terbentuk gelembung-gelembung halus seperti busa sabun menunjukkan uji katalase positif dan jika tidak terdapat gelembung udara berarti uji katalase negatif (Kozaki *et al*, 1992).

### **C.1.2.3. Uji tipe fermentasi (AOAC, 1995)**

Pengujian tipe fermentasi dilakukan dengan cara memasukkan 1 ose kultur BAL ke dalam tabung hungate yang berisi 9 ml MRSB dan tabung Durham, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}C$  dalam kondisi anaerob. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan berupa ada tidaknya gelembung udara dalam tabung Durham. Jika terdapat gelembung udara maka uji fermentasi adalah positif (heterofermentatif) dan apabila tidak terdapat gelembung udara maka uji tipe fermentatif adalah negatif (homofermentatif).

## **C.2. Seleksi BAL sebagai kandidat probiotik**

Penelitian tahap kedua adalah seleksi isolat BAL yang diperoleh dari feses broiler sebagai kandidat probiotik. Isolat BAL yang dipilih untuk seleksi adalah isolat BAL yang menghasilkan uji pewarnaan gram positif, uji katalase negatif, dan tipe homofermentatif.

Seleksi isolat BAL pada penelitian ini mencakup kemampuan menghasilkan produksi asam laktat, aktivitas antimikroba isolat BAL terhadap bakteri patogen, ketahanan terhadap pH asam yaitu pH 2, pH3, dan pH 4, ketahanan terhadap garam empedu 0,3%,serta ketahanan terhadap suhu yang mencakup suhu ruang 30°C, suhu tubuh broiler 41°C, dan suhu 37°C sebagai suhu kontrol.

### **C.2.1. Uji produksi asam laktat (Wirjantoro ,1992)**

Salah satu syarat agar BAL dapat digolongkan sebagai bakteri probiotik adalah kemampuannya untuk menghasilkan senyawa antimikroba. Salah satu metabolit BAL yang berfungsi sebagai senyawa antimikroba adalah asam laktat. Asam laktat mampu menghambat pertumbuhan berbagai tipe bakteri pembusuk dan patogen (Cotter dan Hill, 2003).

Prosedur penentuan produksi asam laktat adalah 2 ose kultur BAL dari agar miring ditumbuhkan kedalam tabung hungate yang berisi MRSB 18 ml kemudian diinkubasi selama 24 jam, pada suhu 37°C dalam kondisi anaerob, selanjutnya diinokulasi sebanyak 10% kedalam medium

sintetik 100 ml. Medium sintetis ini terdiri dari 50 g glukosa/ 1000 ml air, 0,4% urea, 0,1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,05%  $\text{MgSO}_4$ , 0,001%  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,05% KCL, dan yeast ekstrak 0,05%. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sampel disentrifuse pada 3000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan sel dan padatan tidak terlarut. Hasil sentrifuse sampel dipipet 10 ml diencerkan 50 kali, kemudian diambil 100 ml untuk dititrasi dengan NaOH 0,009 N indikator fenolptalein 1% sampai warna berubah menjadi merah muda. Total asam (mg/ml) dihitung dengan rumus :

$$\text{asam laktat} = \frac{fP \times V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times BE}{\text{ml sampel}}$$

keterangan : fP = faktor pengencer (500/100); V NaOH= volume (ml) titrasi  
BE = Berat ekuivalen asam laktat (90); N NaOH= 0,0093

### C.2.2. Uji aktivitas antimikroba (Carter, 1979).

Uji aktivitas antimikroba bertujuan untuk mengetahui potensi penghambatan isolat BAL dan menyeleksi isolat yang paling besar penghambatannya terhadap bakteri patogen. Hal ini berkaitan dengan kemampuan isolat BAL dalam mencegah pertumbuhan bakteri patogen yang masuk ke dalam saluran pencernaan.

Pada penelitian ini digunakan 2 spesies bakteri patogen yaitu *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 dengan populasi yang telah distandarisasi  $10^5$  cfu/ml (cfu= colony forming unit). Bakteri patogen tersebut dipilih karena sering ditemukan

dalam saluran pencernaan atau lingkungan terkontaminasi. Persiapan bakteri uji dan BAL dilakukan sebelum uji antimikroba.

#### Persiapan bakteri Uji

Pertama-tama dilakukan penyegaran bakteri patogen *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 dengan cara menanam satu ose kultur murni kedalam medium agar miring dengan cara kultur kontinu dan diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C dalam kondisi aerob. Selanjutnya diambil 1 ose ke dalam 9 ml NB (*Nutrien Broth*) diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C dalam kondisi aerob. Kemudian dihitung total bakteri dengan TPC (*Total Plate Count*) metode tuang untuk mendapatkan konsentrasi 10<sup>5</sup> cfu/ml. Bila konsentrasi koloni yang didapat melebihi 10<sup>5</sup> cfu/ml maka dilakukan pengenceran.

#### Persiapan BAL

1 ose kultur BAL dimasukkan ke dalam 9 ml MRSB, diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C dalam kondisi anaerob. Kemudian dihitung total BAL dengan metoda TPC (*Total plate count*) metode tuang untuk mendapatkan konsentrasi 10<sup>8</sup> cfu/ml. Bila konsentrasi koloni yang didapat melebihi 10<sup>8</sup> cfu/ml maka dilakukan pengenceran. Uji antimikroba BAL terhadap bakteri patogen dilakukan menggunakan metode difusi kertas cakram sesuai prosedur di bawah ini :

Mula-mula kedalam cawan petri yang telah disterilkan dimasukkan 15-20 ml NA (*nutrient agar*) dan dibiarkan sampai membeku, kemudian dimasukkan bakteri uji (*Salmonella typhimurium* FNCC 0050 dan bakteri



*Staphylococcus aureus* ATCC 25293) sebanyak 0,1 ml diatas permukaan NA yang telah membeku dan diratakan dengan menggunakan stik kaca steril, setelah itu kertas cakram berukuran diameter 5 mm diletakkan diatas olesan bakteri uji dan kemudian dispot dengan BAL terpilih sebanyak 20 µl dan telah diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan penghambatan ditandai dengan terbentuknya zona bening yang diukur dengan jangka sorong dengan satuan mm. Percobaan diulang sebanyak 2 kali.

### **C.2.3. Uji ketahanan terhadap pH asam (modifikasi Zavaglia dkk., 1998)**

Uji ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan isolat BAL terhadap pH asam yaitu pada pH 2, 3, dan 4. Kondisi asam pada penelitian ini diperoleh dengan menambahkan HCL 4N dalam media pertumbuhan. HCL merupakan asam kuat yang mudah terdisosiasi menghasilkan proton, menyebabkan penurunan pH medium di luar sel atau pH ekstraseluler. Uji ketahanan BAL terhadap pH asam sebagai berikut :

Pertama-tama dilakukan penyegaran dengan cara menumbuhkan 1 ose kultur BAL dalam 9 ml medium MRSB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi anaerob. Kultur yang didapat selanjutnya diinokulasikan sebanyak 5 ml kedalam erlemeyer berisi 45 ml MRSB yang telah diatur pH sesuai dengan perlakuan yaitu pH 2, 3, dan 4 dengan bantuan HCL 4N. Kultur bakteri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Penentuan populasi BAL sebelum dan sesudah perlakuan digunakan

metode hitungan cawan (SNI 2006a) dengan cara membuat deret pengenceran dan ditanam 3 pengenceran terakhir simplo duplo sebanyak masing-masing 1 ml kedalam cawan petri steril, kemudian dituangkan media MRSA dengan suhu kurang lebih 45°C kira 15-20 ml dengan metode tuang dan dihomogenisasi dan dibiarkan hingga memadat, selanjutnya diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37° C anaerob selama 48 jam. Ketahanan isolat BAL terhadap pH dihitung berdasarkan selisih unit log jumlah koloni yang tumbuh setelah 48 jam inkubasi di dalam media perlakuan pH 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 adalah jumlah koloni, dinyatakan dalam koloni per ml atau per g  
 $\sum C$  adalah jumlah koloni yang berbeda dalam kisaran hitung (25-250 koloni).

n1 adalah jumlah cawan pertama yang koloninya dapat dihitung

n2 adalah jumlah cawan kedua yang koloninya dapat dihitung

d adalah pengenceran pertama yang digunakan

#### **C.2.4. Uji ketahanan terhadap garam empedu (Zavaglia dkk., 1998)**

Ketahanan BAL terhadap garam empedu juga merupakan salah satu syarat penting untuk probiotik. Pada penelitian ini, uji Ketahanan BAL terhadap garam empedu dilakukan dengan menggunakan konsentrasi garam oxgall 0,3%. Semua mikroba yang berhasil hidup pada konsentrasi garam empedu (oxgall) sebesar 0,3% dinyatakan bersifat tahan terhadap garam empedu. Konsentrasi 0,3% merupakan konsentrasi yang kritikal, nilai yang cukup tinggi untuk menyeleksi galur yang resisten terhadap garam empedu (Zavaglia *et al.*, 1998).

Uji ketahanan BAL terhadap garam empedu dengan konsentrasi garam empedu (oxgall) 0,3%, sebagai berikut:

Pertama-tama dilakukan penyegaran dengan cara menumbuhkan 1 ose Isolat BAL dalam 9 ml medium MRSB pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam tabung hungate dalam kondisi anaerob. Kultur yang didapat diambil sebanyak 5 ml, selanjutnya diinokulasikan kedalam erlemeyer yang berisi 45 ml MRSB mengandung garam oxgall 0,3% (b/v) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Metode penentuan koloni bakteri sebelum dan sesudah perlakuan dilakukan dengan cara yang sama pada uji ketahanan terhadap pH asam.

Ketahanan terhadap garam empedu dihitung berdasarkan selisih unit log jumlah koloni yang tumbuh di dalam media yang mengandung garam empedu (oxgal 0,3%) setelah 24 jam inkubasi terhadap unit log

jumlah koloni sebelum inkubasi. Semakin kecil selisih unit log, maka semakin tahan kultur BAL yang diuji terhadap garam empedu.

#### **C.2.5. Uji ketahanan terhadap suhu**

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan tumbuh BAL pada suhu yang berbeda. Uji ketahanan isolat BAL terhadap suhu dilakukan pada suhu ruang ( $30^{\circ}\text{C}$ ), suhu tubuh broiler ( $41^{\circ}\text{C}$ ) dan sebagai kontrol digunakan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  sebagai berikut :

Pertama-tama dilakukan penyegaran dengan cara menumbuhkan 1 ose Isolat BAL terpilih dalam 9 ml medium MRSB pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam di dalam tabung hungate dalam kondisi anaerob. Kultur yang didapat selanjutnya diinokulasikan sebanyak 5 ml kedalam erlemeyer berisi 45 ml MRSB. Kemudian diinkubasi pada suhu sesuai perlakuan yaitu pada suhu ruang ( $30^{\circ}\text{C}$ ), dan suhu inang ( $41^{\circ}\text{C}$ ), sebagai kontrol pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam.

Metode penentuan koloni bakteri sebelum dan sesudah perlakuan dilakukan dengan metode yang sama pada uji ketahanan terhadap pH asam dan uji ketahanan terhadap garam empedu. Ketahanan isolat BAL terhadap suhu dihitung berdasar selisih unit log jumlah koloni yang tumbuh (cfu/ml) setelah 24 jam inkubasi pada suhu perlakuan terhadap unit log jumlah koloni sebelum inkubasi. Semakin kecil selisih unit log semakin tahan kultur BAL yang diuji terhadap suhu.).

### **C.3. Pengaruh isolat BAL terpilih terhadap produktivitas broiler**

Penelitian tahap ketiga merupakan pengujian secara *in vivo* kemampuan isolat BAL terpilih terhadap produktivitas broiler umur 35 hari. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan ransum. Masing-masing perlakuan diulang 4 kali dan setiap ulangan terdiri dari 5 ekor ayam sehingga jumlah ayam seluruhnya adalah 100 ekor.

#### **C.3.1. Tahap persiapan**

Persiapan awal yang dilakukan sebelum masuk pada tahap pemeliharaan adalah persiapan kandang dan peralatan kandang. Kandang yang digunakan sebanyak 20 unit dengan ukuran masing-masing 100 x 50 x 60 cm dan tinggi dari lantai 40 cm. Alas kandang sistem litter yang diberi serbuk gergaji setebal 10 cm. Setiap unit kandang diberi nomor perlakuan dan nomor ulangan.

Kandang yang digunakan dalam pemeliharaan ayam terlebih dahulu dibersihkan, dikapur dan didesinfektan dua minggu sebelum masuk pada tahap pemeliharaan, demikian juga peralatan kandang. Setiap kandang dilengkapi tempat pakan dan tempat minum yang digantung dan lampu pijar berdaya 60 watt digunakan sebagai pemanas buatan dan penerangan kandang. Pencampuran ransum yang digunakan dalam penelitian dilakukan sehari sebelum ayam datang untuk keperluan kira-kira selama empat hari,

dan selanjutnya penyusunan ransum dilakukan dua kali seminggu untuk menyediakan ransum dalam keadaan segar.

### **C.3.2. Pengelompokan ayam penelitian**

Broiler yang digunakan adalah broiler strain *lohman 202* berumur satu hari (DOC) dengan jenis kelamin jantan dan betina produksi *PT. Multibreeder Adirama Indonesia*. Jumlah ayam yang dipelihara sebanyak 100 ekor yang dipelihara sampai umur 35 hari (5 minggu). DOC yang digunakan mempunyai bobot badan relatif seragam yaitu  $44,93 \text{ g} \pm 1,23$ . Ayam dipelihara dalam 20 unit kandang yang telah diberi nomor sesuai dengan pengacakan perlakuan dan ulangan. Masing-masing unit kandang terdiri dari lima ekor ayam dengan nomor ayam yang diambil secara acak.

Pada saat DOC tiba diberi minum larutan gula kemudian pada hari ke 4 diberi vaksinasi ND strain B1 melalui tetes mata, disertai pemberian *vitastress* selama 5 hari berturut-turut.

### **C.3.3. Ransum Penelitian**

Ransum dan air minum diberikan secara *ad libitum* selama penelitian berlangsung. Bahan yang digunakan dalam menyusun ransum terdiri dari jagung kuning, dedak halus, tepung ikan, bungkil kedelai, dan bungkil kelapa. Komposisi bahan pakan dalam ransum dan kandungan nutrisi ransum yang digunakan untuk setiap perlakuan dalam penelitian ini adalah sama (Tabel 1 dan Tabel 2), kecuali dosis BAL yang berbeda

pada ransum. Kandungan nutrisi ransum yang disusun pada penelitian ini sudah memenuhi persyaratan mutu pakan sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI 2006b) untuk broiler fase starter dan fase finisher dapat dilihat pada Tabel 3.

Pembuatan probiotik BAL dilakukan dengan menggunakan metode pengeringan beku (*freeze drying*) dengan penambahan kriogenik berupa skim milk powder. Prinsip dari kriogenik adalah mempertahankan atau mencegah kerusakan sel seminimal mungkin selama proses *freeze drying* berlangsung. Alur pembuatan kultur kering BAL dapat dilihat pada Gambar 8. Probiotik BAL yang digunakan mengandung mikroba  $1,3 \times 10^8$  cfu/gram. Vinderolla dkk (2000) menyatakan, suatu medium pembawa probiotik minimal mengandung mikroba probiotik  $10^6$ - $10^8$  cfu/ml atau  $10^8$ - $10^{10}$  cfu/gram (preparat kering).

Menurut Surono (2004), kriteria yang perlu dipertimbangkan untuk mendapatkan produk probiotik dengan pengaruh positif optimal bagi inangnya adalah produk probiotik diharapkan memiliki jumlah sel hidup berkisar  $10^7$  –  $10^9$  cfu/ml. Perlakuan dalam penelitian ini sebagai berikut :

- P0 = Tanpa pemberian probiotik BAL
- P1 = Pemberian antibiotik *Zinc bacitracin* 0,01% (0,1 g/kg ~ 100 mg/kg)
- P2 = Pemberian probiotik BAL 0,5 % ( 5 g/kg ~  $6,5 \times 10^8$  cfu/kg)
- P3 = Pemberian probiotik BAL 1 % (10 g/kg ~  $1,3 \times 10^9$  cfu/kg)
- P4 = Pemberian probiotik BAL 1,5 % (15 g/kg ~  $1,95 \times 10^9$  cfu/kg)

Penggunaan dosis antibiotik *Zinc bacitracin* 0,01% merupakan hasil kalibrasi dari penelitian Engberg dkk (2000) melaporkan bahwa penggunaan *Zinc bacitracin* pada dosis 50-150 mg/kg pakan dapat meningkatkan pertambahan bobot hidup dan konversi pakan.

Tabel 1. Kandungan nutrisi bahan pakan yang digunakan dalam menyusun ransum penelitian\*

Bahan Pakan	PK %	LK %	SK %	Ca %	P %	ME Kcal/kg
Jagung kuning	9,46	2,58	2,02	0,25	0,19	3358
Dedak	14,12	8,7	11,45	0,39	1,22	1650
Tepung ikan	60,08	4,54	0,96	5,24	2,96	3095
Bungkil kedelai	43,79	8,16	12,18	0,89	0,57	2260
Bungkil kelapa	20,25	11,44	15,57	0,14	0,5	1920

\*) Hasil analisa Proksimat laboratorium kimia dan makanan ternak FAPET UNHAS; PK = Protein kasar; LK = Lemak kasar; SK = Serat kasar; ME= metabolisme energi.

Tabel 2. Komposisi bahan pakan dan Zat-zat makanan dalam ransum perlakuan

Bahan Pakan (%)	P0	P1	P2	P3	P4
Jagung giling	57	57	57	57	57
Dedak padi	8	8	8	8	8
Tepung ikan	12	12	12	12	12
Bungkil kedelai	17	17	17	17	17
Bungkil kelapa	6	6	6	6	6
<b>Jumlah</b>	100	100	100	100	100
Kultur Kering BAL (%)	-	-	0.5**	1**	1.5**
Zinc Bacitrasin (%)	-	0.01**	-	-	-
Protein kasar (%)	22,4	22,4	22,4	22,4	22,4
Lemak kasar (%)	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8
Serat kasar (%)	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2
Ca (%)	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
P (%)	0,69	0,69	0,69	0,69	0,69
Metabolisme energi (kcal/kg)	2916,9	2916,9	2916,9	2916,9	2916,9

\*\*\*) sebagai *Feed additives* (%)



Tabel 3. Persyaratan mutu pakan broiler fase starter dan fase finisher berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI 2006)

No.	Parameter	Fase starter	Fase Finisher
1.	Kadar air (%)	Maks.14,0	Maks.14,0
2.	Protein kasar (%)	Min.19,0	Min.18,0
3.	Lemak kasar (%)	Maks.7,4	Maks.8,0
4.	Serat kasar (%)	Maks.6,0	Maks.6,0
5.	Kalsium (Ca)	0,90 – 1,20	0,90 – 1,20
6.	Fosfor (P)	0,60 -1,00	0,60 -1,00
7.	Energi Metabolisme (EM)	Min.2900	Min.2900



Gambar 8. Diagram alir proses pembuatan tepung probiotik BAL

#### C.3.4. Pengumpulan data

##### 1. Konsumsi ransum (g/ekor)

Konsumsi ransum diukur berdasarkan jumlah ransum yang disediakan awal minggu penelitian dikurangi sisa ransum pada akhir minggu penelitian. Data konsumsi ransum merupakan data kumulatif selama penelitian.

## 2. Pertambahan bobot badan (g/ekor)

Data pertambahan bobot badan selama penelitian (35 hari) didapat dari selisih antara bobot badan akhir dengan bobot badan awal penelitian.

## 3. Konversi ransum (FCR)

Konversi ransum diperoleh dengan cara menghitung jumlah ransum yang dikonsumsi dibagi dengan pertambahan bobot badan pada setiap unit percobaan.

## 4. Indeks produksi

Indeks produksi dihitung menurut Arifien ( 1997 )

$$\frac{\text{Persentase ayam hidup} \times \text{Rataan bobot badan akhir (g/ekor)}}{\text{Lama pemeliharaan (hari)} \times \text{konversi pakan}} \times 10$$

Keterangan :	≤ 120	: Prestasi sangat jelek
	121- 140	: Prestasi jelek
	141- 160	: Prestasi cukup
	161- 180	: Prestasi baik
	181- 200	: Prestasi sangat baik
	≥200	: Prestasi istimewa

## 5. Persentase karkas (%)

Data persentase karkas diambil dari hasil processing ayam pada akhir penelitian dengan cara menghasilkan karkas kosong yaitu tubuh setelah dipisahkan dari darah, bulu, kepala sampai batas pangkal leher, kaki (shank), alat pencernaan dan organ-organ tubuh bagian dalam kecuali ginjal dan paru. Setiap unit percobaan diambil sampel 20% dari populasi secara acak (masing-masing satu ekor untuk setiap unit percobaan).

Persentase karkas dihitung berdasarkan bobot karkas akhir penelitian dibagi bobot hidup dikali 100 persen.

#### 6. Kolesterol darah

Kadar kolesterol serum darah, HDL, dan LDL darah diukur pada akhir periode pengamatan (minggu ke 5). Pengambilan sampel darah diambil melalui pembuluh darah di bawah sayap (*vena brachialis*) sebanyak 3 ml tiap ekor dengan menggunakan spuit disposable ukuran 3 ml kemudian dimasukkan ke botol yang sudah ada anti koagulan. Kandungan kolesterol dianalisis dengan prosedur enzimatik CHODP-PAP dan HDL dengan metode fosfatungstat (Boehringer Mannheim EMBH Diagnostica, 1987).

#### 7. Lemak abdominal (%)

Salah satu dari beberapa bagian tubuh yang digunakan untuk menyimpan lemak pada ayam pedaging adalah bagian disekitar perut yang disebut lemak abdomen. Data lemak abdominal diperoleh dari penimbangan lemak abdominal yang dikeluarkan dari setiap sampel karkas sesuai perlakuan. Persentase lemak abdominal dihitung berdasarkan berat lemak abdominal dibagi dengan berat karkas dikali 100 persen.

#### 8. Lemak daging dada dan daging paha broiler

Sampel ayam diambil masing-masing satu ekor secara acak dari setiap unit percobaan (20 % dari populasi). Prosedur pengambilan lemak daging dada dan daging paha diawali dengan

pemotongan ayam untuk memperoleh karkas kosong. sampel daging yang diambil pada bagian dada, daging paha atas dan paha bawah sebanyak 5 g kemudian digiling sampai daging hancur dan tercampur homogen, kemudian dianalisis berdasarkan metode Ekstraksi Soxhlet (AOAC, 1984).

9. Kolesterol daging dada dan daging paha broiler

Prosedur pengambilan sampel untuk analisis kandungan kolesterol daging dada dan paha sama dengan pengambilan sampel lemak daging.

#### D. Analisis Data

Data pada penelitian tahap pertama dan penelitian tahap kedua dianalisis secara deskriptif. Data hasil pengamatan pada penelitian tahap ketiga dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam. Untuk melihat pengaruh perlakuan dilakukan dengan menggunakan uji Kontras Ortogonal antara perlakuan P0 dengan P2-P3-P4 dan antara perlakuan P1 dengan P2-P3-P4. Untuk melihat kecenderungan (*trend*) antar perlakuan level probiotik P2-P3-P4 maka dilakukan uji polynomial ortogonal.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Isolasi dan karakterisasi BAL

Isolasi BAL dilakukan pada sampel feses broiler sebagai langkah awal untuk membedakan antara bakteri asam laktat dengan bakteri non asam laktat. Koloni BAL dikenali dengan munculnya zona bening disekeliling koloni bakteri pada media MRSA + CaCO<sub>3</sub> 1%. Selanjutnya dilakukan purifikasi atau pemurnian pada masing-masing koloni yang memiliki kenampakan yang berbeda hingga diperoleh isolat yang murni.

Hasil isolasi dari feses broiler diperoleh isolat BAL sebanyak 19 isolat. Sejumlah 19 isolat ini kemudian dikarakterisasi berdasarkan sifat BAL berdasarkan pewarnaan Gram, bentuk morfologis, uji katalase dan uji fermentatif dapat dilihat pada Tabel 4.

Pengamatan secara mikroskopis terhadap bentuk sel isolat BAL menunjukkan isolat BAL yang diisolasi dari feses broiler berbentuk batang dan bulat. Uji pewarnaan gram memberikan hasil uji Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri, sedangkan bakteri Gram negatif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada sel bakteri.

Tabel 4. Karakteristik isolat BAL hasil isolasi dari feses broiler

Kode Isolat BAL	pewarnaan Gram	Bentuk morfologi	Uji Katalase	Uji Fermentatif
M 1	+	kokus	-	Homofermentatif
M 2	+	kokus	-	Homofermentatif
M 3	+	kokus	-	Homofermentatif
M 4	+	kokus	-	Homofermentatif
M 5	+	kokus	-	Homofermentatif
M 7	+	Basil	-	Homofermentatif
M 8	+	kokus	-	Homofermentatif
M 14	-	kokus	-	Homofermentatif
M 15	-	kokus	-	Homofermentatif
M 16	-	Basil	-	Heterofermentatif
M 17	-	Basil	-	Heterofermentatif
M 23	+	Basil	-	Homofermentatif
M 24	+	kokus	-	Heterofermentatif
M 25	-	Basil	-	Homofermentatif
M 26	+	Basil	-	Homofermentatif
M 27	-	kokus	-	Homofermentatif
M 28	+	kokus	-	Homofermentatif
M 29	-	kokus	-	Homofermentatif
M 30	-	Basil	-	Homofermentatif

Keterangan : M = kode isolat

Bakteri gram positif dapat mempertahankan warna ungu disebabkan ketika ditetesi alkohol 95% dinding sel mengalami dehidrasi sehingga menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi kecil dan daya permeabilitasnya berkurang sehingga zat pewarna kristal violet tidak dapat keluar dari sel dan sel akan tetap berwarna ungu. Pemberian pewarna tandingan berupa safranin yang berwarna merah tidak akan berpengaruh karena tidak masuk ke dalam dinding sel. Sebaliknya bakteri Gram negatif tidak mampu mempertahankan warna kristal violet karena pada saat dibilas dengan alkohol 95%, lipid dari dinding sel terekstraksi, pori-pori sel mengembang sehingga zat pewarna kristal violet keluar dari sel dan

membuat sel menjadi tidak berwarna. Sel bakteri yang tidak berwarna pada saat ditetesi dengan pewarna tandingan yaitu safranin, maka sel akan menyerap zat pewarna safranin sehingga sel akan berwarna merah pada saat diamati dibawah mikroskop.

Kandungan utama dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas lapisan tebal peptidoglikan mampu menyerap warna ungu lugol dan tetap mempertahankan warna ungu tersebut ketika dicuci dengan alkohol. Kandungan utama dinding sel bakteri Gram negatif yaitu lipopolisakarida tidak dapat mempertahankan warna kristal violet sehingga berwarna merah setelah diberi zat pewarna tandingan yaitu safranin (Pelczar dan Chan, 2007; Fardiaz, 1992).

Hasil pengujian tipe katalase dengan larutan 3 %  $H_2O_2$  pada isolat bakteri menunjukkan bahwa semua isolat yang diisolasi dari feses broiler adalah katalase negatif yang ditandai dengan tidak adanya gelembung gas pada suspensi bakteri yang ditetesi dengan  $H_2O_2$ . Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat bakteri tidak memiliki enzim katalase yang dapat mengkatalis  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan gas  $O_2$ .

Uji katalase digunakan untuk mengetahui sifat bakteri terhadap kebutuhan oksigen. Pengelompokan bakteri berdasarkan kebutuhan oksigen terdiri dari bakteri aerob, bakteri anaerob, dan bakteri anaerob fakultatif. Bakteri anaerob memiliki enzim katalase yang mampu menguraikan  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan gas  $O_2$  sehingga pada uji katalase menghasilkan reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung



halus. Sedangkan bakteri anaerob fakultatif tidak memiliki enzim katalase tetapi memiliki enzim peroksidase yang dapat mengkatalis  $H_2O_2$  dengan senyawa organik menghasilkan senyawa organik teroksidasi dan  $H_2O$ , sehingga pada uji katalase menunjukkan reaksi negatif dengan tidak terbentuknya gelembung udara. Berdasarkan uji katalase, semua isolat BAL yang diperoleh pada penelitian ini bersifat anaerobik fakultatif.

Berdasarkan uji fermentasi terhadap 19 isolat terlihat bahwa terdapat 16 isolat terdeteksi sebagai tipe homofermentatif dan 3 isolat tipe heterofermentatif. BAL dengan tipe homofermentatif ditunjukkan dengan tidak adanya gelembung udara yang terbentuk pada tabung Durham. Sebaliknya isolat dengan tipe heterofermentatif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara pada tabung Durham.

Timbulnya gelembung udara pada tipe heterofermentatif disebabkan adanya gas  $CO_2$  yang dihasilkan yang sangat mudah larut dalam air sehingga tabung Durham akan mendeteksi produksinya ditandai dengan adanya gelembung berbentuk cincin pada bagian atas tabung Durham. Menurut Surono (2004), produk akhir dari proses metabolisme BAL yang bersifat homofermentatif sebagian besar berupa asam laktat, sedangkan BAL bersifat heterofermentatif pada proses metabolismenya menghasilkan produk akhir selain berupa asam laktat juga menghasilkan  $CO_2$ , alkohol dan asam laktat.

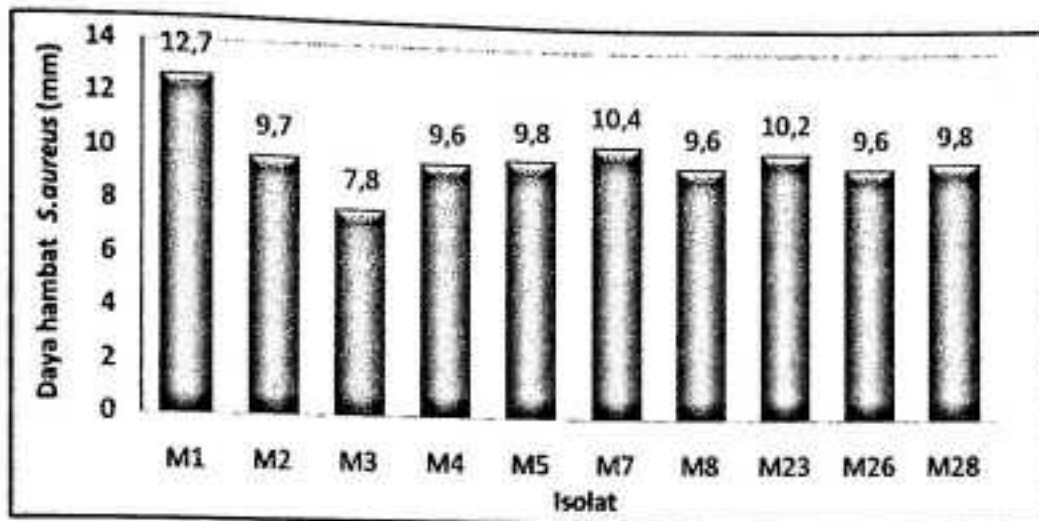
## **B. Seleksi BAL sebagai kandidat probiotik**

Pemilihan isolat BAL untuk seleksi sebagai kandidat probiotik dilakukan berdasarkan ketentuan BAL yang mempunyai sifat Gram positif, katalase negatif dan tipe homofermentatif. Tabel 5 memperlihatkan bahwa sejumlah 19 isolat BAL teridentifikasi pada feses broiler, yang terpilih untuk seleksi BAL sebagai probiotik adalah 10 isolat dengan kode isolat M1, M2, M3, M4, M5, M7, M8, M23, M26 dan M28.

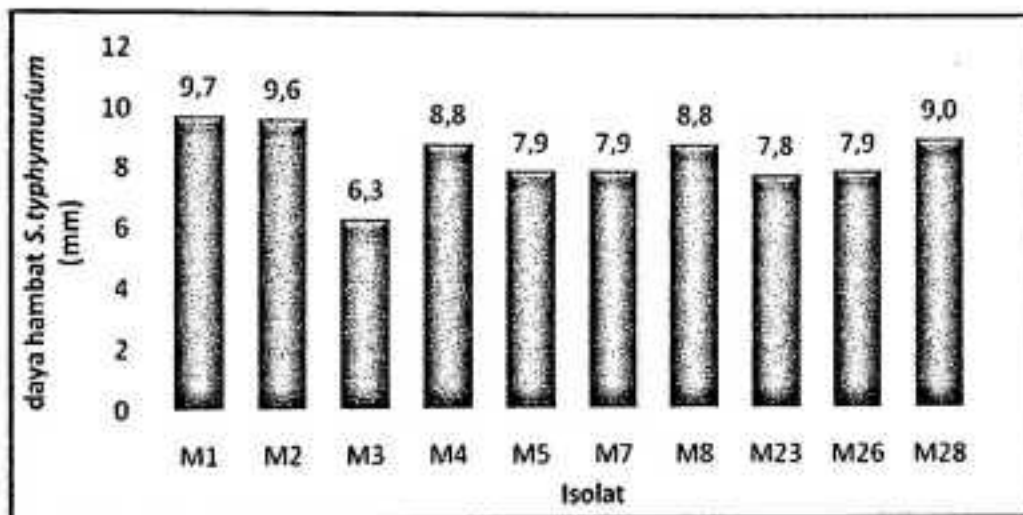
### **B.1. Aktivitas antimikroba BAL terhadap bakteri patogen**

Salah satu syarat BAL dapat digolongkan sebagai bakteri probiotik yaitu memiliki aktivitas antimikroba yang mampu menggantikan kerja antibiotik untuk mempertahankan keseimbangan mikroflora dalam usus dengan menghambat atau menurunkan bakteri patogen.

Hasil uji aktivitas antimikroba kesepuluh isolat BAL terhadap bakteri patogen menunjukkan bahwa semua isolat BAL memiliki aktivitas penghambatan yang beragam terhadap bakteri patogen. Aktivitas antimikroba dari kesepuluh isolat BAL terhadap dua jenis bakteri patogen yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 dan *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 dapat dilihat pada Gambar 9 dan Gambar 10.



Gambar 9. Aktivitas antimikroba isolat BAL terhadap *Staphylococcus aureus* (Gram positif)



Gambar 10. Aktivitas antimikroba isolat BAL terhadap *Salmonella typhimurium* (Gram negatif)

Hasil penelitian memperlihatkan pada umumnya bakteri *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 yang tergolong bakteri gram negatif mempunyai ketahanan yang lebih baik dibanding bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 yang tergolong bakteri gram positif. Kisaran diameter penghambatan isolat BAL terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* berturut-turut adalah 7,8 mm sampai dengan 12,7

mm (Gambar 9) dan 6,3 mm sampai dengan 9,7 mm (Gambar 10). Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 2.

Aktivitas penghambatan dari kesepuluh isolat BAL terlihat bahwa isolat M1 menghasilkan penghambatan yang tertinggi terhadap kedua bakteri uji dibanding isolat lainnya. Diameter penghambatan isolat BAL terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* masing-masing sebesar 12,77 mm dan 9,7 mm. Hal ini didukung dengan produksi asam laktat isolat M1 lebih tinggi dibanding isolat lainnya, dan kondisi pH akhir inkubasi yang lebih rendah (Tabel 5).

Diameter penghambatan oleh isolat M1 terhadap kedua bakteri patogen ini rata-rata lebih besar dibanding dari hasil penelitian Wirawati (2002) terhadap kemampuan penghambatan isolat BAL yang diisolasi dari tempoyak Kotabumi, dengan diameter penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* masing-masing berkisar 5,4-10,7mm dan 4,3- 6,1 mm.

Perbedaan aktivitas BAL dalam menghambat bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 dan *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 disebabkan perbedaan produksi asam laktat sebagai senyawa antimikroba yang dihasilkan selama proses fermentasi (Tabel 5) dan perbedaan dinding sel bakteri patogen. Asam laktat yang dihasilkan isolat BAL selama inkubasi mengakibatkan akumulasi produk akhir asam dan turunnya pH yang menyebabkan penghambatan terhadap bakteri baik

gram positif maupun bakteri gram negatif yang tidak tahan terhadap kondisi pH yang relatif rendah.

Tabel 5. Produksi asam laktat dan pH akhir inkubasi isolat BAL

Kode isolat BAL	Produksi asam Laktat (mg/ml)	pH akhir inkubasi
M1	4,06	4,02
M2	1,26	4,50
M3	1,17	4,60
M4	1,51	4,30
M5	1,13	4,66
M7	1,30	4,59
M8	0,52	4,78
M23	1,34	4,40
M26	1,32	4,40
M28	1,05	4,70

Rata-rata produksi asam laktat yang dihasilkan oleh kesepuluh isolat BAL berkisar 0,5 mg/ml sampai dengan 4,1 mg/ml, dan isolat yang menghasilkan produksi asam laktat tertinggi adalah isolat M1. Rata-rata produksi asam laktat yang dihasilkan BAL pada penelitian ini termasuk tinggi apabila dibandingkan dengan produksi asam laktat BAL hasil penelitian Pinuji (2006) yaitu berkisar 0,35 mg/ml sampai dengan 0,65 mg/ml yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan.

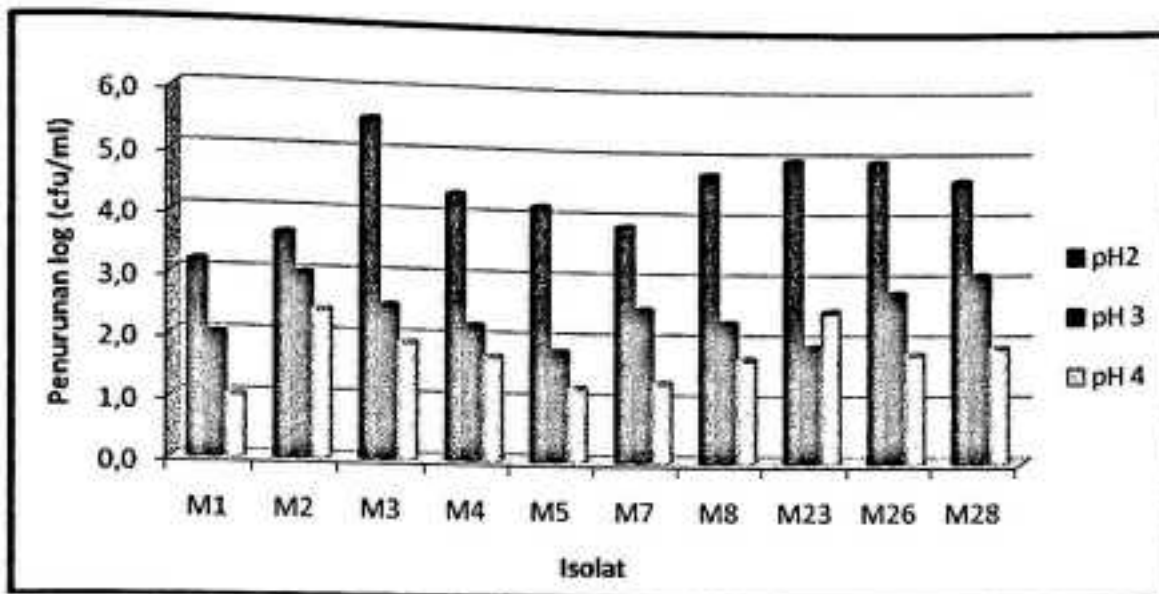
Selain itu, perbedaan aktivitas BAL dalam menghambat bakteri patogen *Salmonella typhimurium* FNCC dan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 disebabkan oleh perbedaan komponen dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 yang tergolong bakteri gram positif dan bakteri *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 yang tergolong bakteri gram negatif.

Struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks terdiri dari lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa polisakarida dan lapisan dalam peptidoglikan. Dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana, sehingga memudahkan senyawa antimikroba dapat masuk ke dalam sel untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuh mikroba dengan mekanisme berupa kerusakan dinding sel dengan cara menghambat proses pembentukannya atau menyebabkan lisis pada dinding sel yang sudah terbentuk dan perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga terjadi kebocoran zat nutrisi dari dalam sel. Rusaknya membran sitoplasma akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan atau matinya sel (Pelezar dan Chan, 2007).

## **B.2. Ketahanan terhadap pH asam**

Ketahanan terhadap pH asam merupakan syarat utama suatu isolat BAL bermanfaat sebagai probiotik agar dapat bertahan hidup di dalam saluran pencernaan, karena stres pertama terjadi pada sel bakteri saat memasuki saluran pencernaan adalah terpapar pada asam lambung. Menurut Jacobsen dkk (1999), semua bakteri yang berhasil bertahan pada kondisi pH rendah dinyatakan bersifat tahan atau resisten terhadap asam.

Ketahanan isolat BAL terhadap pH asam dilakukan pada pH medium 2, 3, dan 4. Ketahanan isolat BAL terhadap pH asam dapat dilihat pada Gambar 11. Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 3.



Gambar 11. Ketahanan Isolat BAL terhadap pH 2, 3, dan 4 selama 24 jam

Gambar 11 memperlihatkan kesepuluh isolat BAL yang diisolasi dari sumber yang sama, memiliki ketahanan berbeda terhadap pH perlakuan. 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.

Penurunan log yang terkecil menunjukkan ketahanan isolat terhadap asam yang paling besar, sebaliknya penurunan log yang besar menunjukkan ketahanan terhadap asam lebih rendah. Berdasarkan Gambar 11 terlihat bahwa, 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..

Hasil penelitian Evanikastri (2003) dengan uji ketahanan pH 3 selama 24 jam terhadap isolat *Lactobacillus* F3, dan *Lactococcus* Ae 1, *Lactococcus* En 1, dan *Lactococcus* En yang diisolasi dari sampel klinis bayi, menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah koloni BAL berkisar 1,5 – 3,5 log (resisten). Jika dibandingkan dengan hasil penelitian ini, dimana penurunan jumlah koloni isolat BAL yang diisolasi dari feses broiler pada pH 3 berkisar 1,8 unit log/ml - 3,1 unit log/ml adalah lebih tahan terhadap pH 3.

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).

BAL yang tahan terhadap kondisi asam disebabkan oleh kemampuan BAL untuk mempertahankan pH sitoplasma lebih basa daripada pH ekstraseluler. Menurut Siegumfeldt dkk (2000), pada BAL terjadi perubahan dinamis pH intraseluler seiring dengan terjadinya penurunan pH ekstraseluler, sehingga tidak terjadi gradien proton yang besar. Gradien proton yang besar bagi BAL tidak menguntungkan sebab



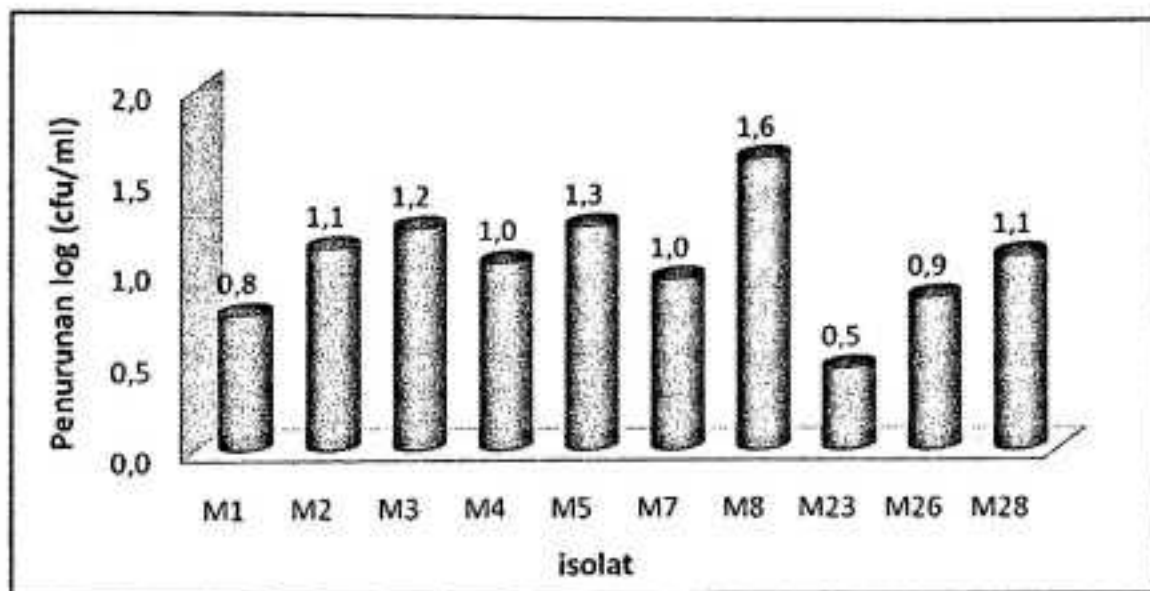
translokasi proton menggunakan banyak energi, selain itu gradien proton yang besar mengakibatkan akumulasi anion, asam organik dalam sitosol yang bersifat toksik bagi sel tersebut.

Pertahanan utama sel bakteri dari lingkungannya adalah membran seluler. Bila sel bakteri terpapar pada kondisi yang sangat asam, maka membran sel dapat mengalami kerusakan dan berakibat hilangnya komponen-komponen intraseluler, seperti Mg, K dan lemak dari sel, dan kerusakan ini dapat menyebabkan kematian pada sel. Pelczar dan Chan (2007) menjelaskan bahwa dinding sel juga berperan dalam mempengaruhi ketahanan bakteri terhadap pH rendah. Dinding sel BAL tergolong kedalam gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal. Peptidoglikan merupakan polimer besar tersusun oleh N-asetilglukosamin (AGA), asam N-asetilmuramat (AAM) dan satu peptida yang terdiri dari empat asam amino yang saling berikatan dengan lapisan lainnya, sehingga membentuk suatu ikatan silang yang kuat menutupi seluruh sel.

### **B.3. Ketahanan terhadap Garam Empedu**

*Kemampuan bertahan hidup dalam garam empedu adalah keharusan bagi bakteri sumber probiotik, dan hal ini secara umum dimasukkan dalam kriteria yang digunakan untuk menyeleksi strain potensial untuk probiotik, karena setelah melewati lambung maka BAL akan memasuki bagian usus halus dimana empedu disekresikan.*

Ketahanan isolat BAL terhadap konsentrasi garam empedu 0,3% dinyatakan dalam penurunan log yang terjadi pada masing-masing isolat BAL. Isolat BAL yang mengalami penurunan log terkecil menunjukkan ketahanan terhadap garam empedu paling besar. Sebaliknya penurunan log yang besar menunjukkan ketahanan isolat BAL yang rendah terhadap garam empedu. Hasil pengujian ketahanan 10 isolat terhadap konsentrasi garam empedu (oxgall) 0,3% dapat dilihat pada Gambar 12. Data selengkapnya dapat dilihat dalam Lampiran 4.



Gambar 12. Ketahanan isolat BAL terhadap garam empedu

Gambar 12 memperlihatkan bahwa meskipun terjadi aktivitas penghambatan pertumbuhan kesepuluh isolat BAL oleh garam empedu, tetapi masih mampu bertahan dan tumbuh dalam medium yang mengandung garam empedu sampai konsentrasi 0,3%, serta memiliki ketahanan terhadap garam empedu 0,3 % yang lebih besar dibanding terhadap kondisi asam, ditandai dengan rata-rata penurunan jumlah



koloni yang lebih kecil. Penurunan jumlah koloni kesepuluh isolat BAL terhadap garam empedu berkisar antara 0,5 unit log/ml sampai dengan 1,6 unit log/ml (resisten).

Hal ini mengindikasikan bahwa isolat BAL dari feses broiler ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai probiotik, karena konsentrasi 0,3% merupakan konsentrasi yang kritikal, nilai yang cukup tinggi untuk menyeleksi galur yang resisten terhadap garam empedu (Zavaglia *et al.*, 1998). 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).

Mekanisme ketahanan BAL terhadap garam empedu dijelaskan oleh Moser dan Savage (2001), BAL mampu bertahan terhadap garam empedu karena memiliki enzim (*bile salt hydrolase*, BSH) yang mampu mengubah kemampuan fisika-kimia yang dimiliki oleh garam empedu sehingga tidak bersifat racun bagi BAL, dengan aktivitas menghidrolisis atau memutuskan ikatan C-24 N-acyl amida yang terbentuk diantara asam empedu dan asam amino pada garam empedu terkonyugasi. Proses ini menghasilkan garam empedu terdekonjugasi yang memiliki kemampuan antimikroba yang rendah, sehingga tidak terlalu membahayakan kehidupan bakteri.

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.

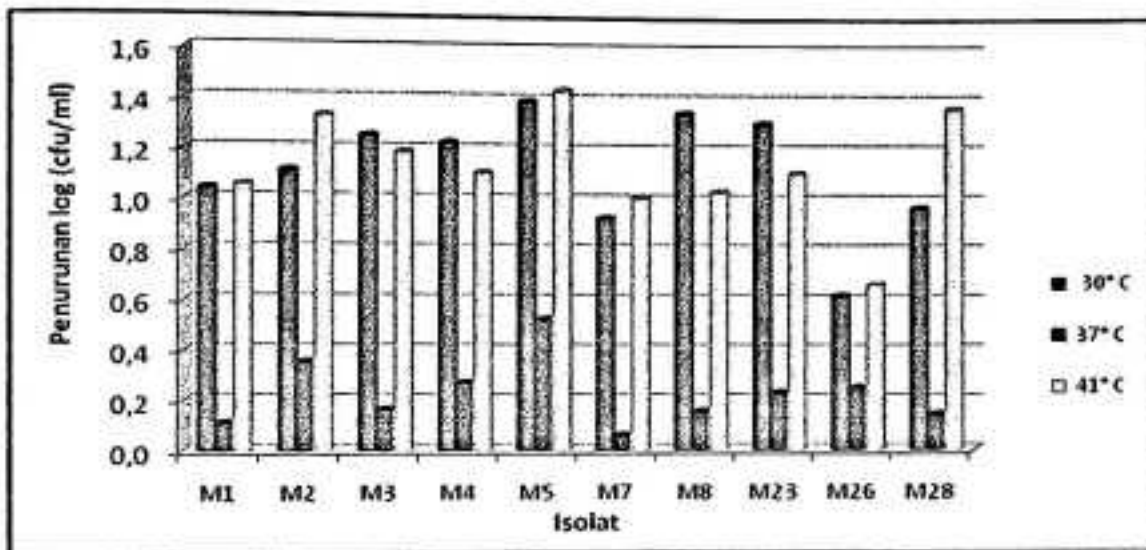
Demikian halnya pada membran sel yang sebagian besar tersusun oleh derivat lipid, seperti fosfolipid, asam lemak dan kolesterol, sehingga dapat menyebabkan perubahan permeabilitas. Garam empedu bersifat sebagai senyawa aktif pada permukaan sel sehingga dapat menembus dan bereaksi dengan sisi membran sitoplasma yang bersifat lipofilik dan menyebabkan perubahan dan kerusakan struktur membran (Hill, 1995; Mourad dan Eddine, 2006).

#### **B.4. Ketahanan terhadap suhu**

Isolat BAL sebagai kandidat probiotik harus mampu bertahan hidup pada suhu saat dikonsumsi maupun kondisi suhu pada saat berada di dalam saluran pencernaan, karena suhu merupakan salah satu faktor

lingkungan yang berpengaruh langsung pada pertumbuhan dan daya hidup mikroba, serta mempengaruhi aktivitas enzim yang mengkatalis reaksi-reaksi biokimia di dalam sel mikroba.

Ketahanan BAL pada suhu suhu ruang  $30^{\circ}\text{C}$ , suhu tubuh broiler  $41^{\circ}\text{C}$  dan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  (kontrol) dapat dilihat pada Gambar 13. Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 5.



Gambar 13. Ketahanan Isolat BAL terhadap suhu  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $37^{\circ}\text{C}$  dan  $41^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam

Gambar 13 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  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $37^{\circ}\text{C}$  dan  $41^{\circ}\text{C}$  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 Petterson (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.

#### **B.5. Pemilihan isolat BAL yang diisolasi dari feses broiler untuk uji *in vivo***

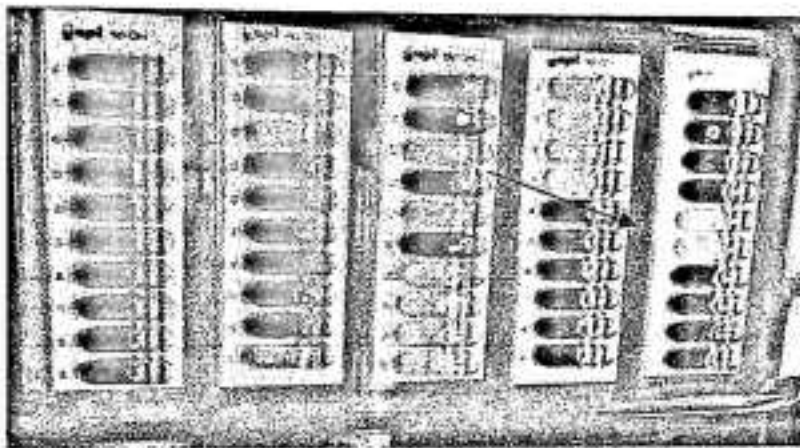
Berdasarkan pada uji ketahanan isolat BAL terhadap pH asam, garam empedu (oxgall 0,3%), suhu, dan aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen, diketahui bahwa tidak semua karakteristik probiotik BAL berada pada satu jenis isolat, sehingga diperlukan beberapa pertimbangan. Penentuan BAL terpilih berdasarkan ranking untuk masing-masing sifat yang diuji dapat dilihat pada Tabel 6.

Berpedoman pada Tabel 6, isolat yang berpotensi dikembangkan sebagai probiotik berdasarkan karakteristik penghambatan terhadap mikroorganisme patogen dan karakteristik pertumbuhan pada media MRSB pada berbagai kondisi saluran pencernaan, maka isolat M1 sebagai isolat terpilih untuk digunakan sebagai probiotik.

Tabel 6. Urutan ranking isolat BAL feses broiler berdasarkan masing-masing sifat yang diuji.

Ranking	sifat antimikroba		pH asam ( $\Delta$ log)			Garam empedu ( $\Delta$ log)	suhu ( $\Delta$ log)		
	<i>S.aureus</i>	<i>S. typhi</i>	pH 2	pH 3	pH 4		30° C	37° C	41° C
1	M1	M1	M1	M5	M1	M23	M1, M7, M28	M26	
2	M7, M23	M2	M2	M23	M5	M1	M3, M8, M23	M7, M8	
3	M5, M28	M28	M7	M1	M7	M26	M4, M26	M1, M4, M23	
4	M2	M4, M8	M5	M4	M4, M8	M4, M7	M2	M3	
5	M4, M8, M26	M5, M7, M26	M4	M8	M26	M2, M28	M5	M2	
6	M3	M23	M8, M28	M3, M7	M3, M28	M3	M3, M23	M5, M28	
7		M3	M23, M26	M26	M2	M5	M5, M8		
8			M3	M2	M23	M8			
9				M28					

Identifikasi isolat BAL M1 dengan menggunakan perangkat API-50 CHL (*Biomerieux, Marcy l'Etoile, France*) (API = *Academic performance indeks*) untuk mengidentifikasi BAL sampai ke tingkat spesies berdasarkan kemampuan dalam memfermentasi berbagai jenis gula (Tabel 7). M1 mampu mendegradasi 17 komponen gula yaitu komponen gula no : 2, 5, 6, 11, 12, 13, 14, 16, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 33, dan 40 (Gambar 14).



Gambar 14 : Hasil identifikasi isolat M1 setelah 48 jam pascainokulasi pada perangkat Kit API 50 CHL (tanda panah menunjukkan reaksi positif pada gula No 5).

GOOD IDENTIFICATION								
Strip	API 50 CHL V5.1							
Profile	-+...++...+++++...-+...+++++...-+...-----							
Note	ID. NOT VALID BEFORE 48 HOURS							
Significant taxa	% ID	T	Tests against					
Lactococcus lactis ssp lactis 2	94.0	0.46	GLY	1%	LARA	4%	RHA	1%
Next taxon	% ID	T	Tests against					
Pediococcus pentosaceus 1	3.1	0.27	GLY	0%	AMY	99%	LAC	1%

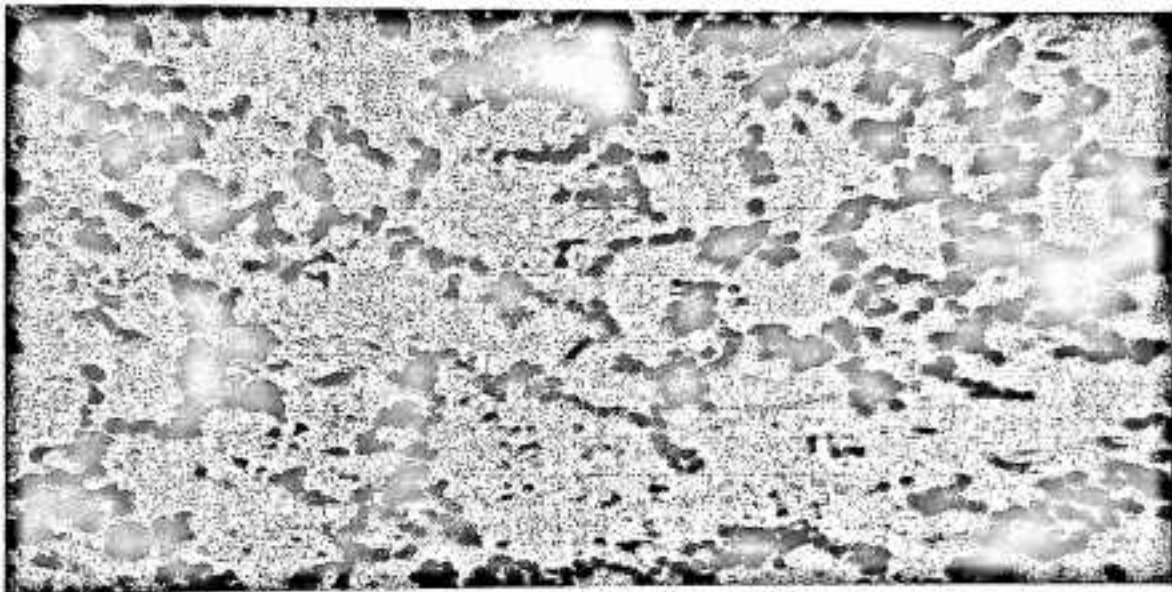


Tabel 7. Profil fermentasi karbohidrat isolat M1 setelah 48 jam pascainokulasi pada perangkat API 50 CHL

No	Profil fermentasi karbohidrat isolat M1	No	Profil fermentasi karbohidrat isolat M1
1.	kontrol	26.	Esculin Ferric Citrate
2.	Glycerol	27.	Salicin
3.	Erythritol	28.	D-Cellobiose
4.	D-Arabinose	29.	D-Maltose
5.	L-Arabinose	30.	D-Lactose (bovine origin)
6.	D-Ribose	31.	D-Melibiose
7.	D-Xylose	32.	Saccharose (Sucrose)
8.	L-Xylose	33.	D-Trehalose
9.	D-Adonitol	34.	Inulin
10.	Methyl- $\beta$ -D-Xylopyranoside	35.	D-Melezitose
11.	D-Galaktose	36.	D-Raffinose
12.	D-Glucose	37.	Amidon (Starch)
13.	D-Fructose	38.	Glycogen
14.	D-Mannose	39.	Xylitol
15.	L-Sorbose	40.	Gentiobiose
16.	L-Rhamnose	41.	D-Turanose
17.	Dulcitol	42.	D-Lyxose
18.	Inositol	43.	D-Tagatose
19.	D-Mannitol	44.	D-Fucose
20.	D-Sorbitol	45.	L-Fucose
21.	Methyl- $\alpha$ -D-Mannopyranoside	46.	D-Arabitol
22.	Methyl- $\alpha$ -D-Glucopyranoside	47.	L-Arabitol
23.	N-Acetyl Glucosamine	48.	Potassium Gluconate
24.	Amygdalin	49.	Potassium 2-keto-Gluconate
25.	Arbutin	50.	Potassium 5-keto-Gluconate
	Katalase		
	Gram		
	Morfologi sel		

Keterangan : + = positif; - = negatif

Berdasarkan profil fermentasi karbohidrat isolat M1 pada perangkat API 50 CHL (*bioMeriueu, Marcy l'Etoile, France, 2006*), species BAL yang memiliki kemampuan degradasi gula yang paling mendekati isolat M1 adalah *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dengan persentase identifikasi 94% (Good identification). *Lactococcus lactis ssp lactis 2* memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut; warna koloni putih susu atau agak krem, bentuk koloni bundar atau bulat besar, Gram positif, tidak motil, katalase negatif dan homofermentatif. Morfologi BAL M1 dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 15. Hasil pewarnaan Gram BAL M1

BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, selanjutnya dilakukan pembuatan tepung probiotik dengan menggunakan metode pengeringan beku (*freeze drying*) untuk ditambahkan ke dalam ransum broiler sebagai imbuhan pakan (*feed additives*) untuk mengetahui pengaruhnya terhadap produktivitas broiler yang dipelihara selama 35 hari.

Nilai konsumsi ransum sangat menentukan dalam analisis ekonomi pemeliharaan ayam potong. Berdasarkan hasil analisis statistik (Tabel 8), konsumsi komulatif perlakuan kontrol tidak berbeda ( $P=0,610$ ) dengan perlakuan BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, dan konsumsi komulatif antara perlakuan antibiotika tidak berbeda ( $P=0,240$ ) dengan konsumsi komulatif perlakuan BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2*. Kenaikan level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* tidak memberikan respon secara linier ( $P=0,146$ ) maupun kuadratik ( $P=0,593$ ) terhadap konsumsi komulatif.

Data penambahan bobot badan dalam penelitian ini dapat digunakan untuk menilai pertumbuhan ternak karena penambahan bobot badan merupakan manifestasi dari pertumbuhan yang dicapai selama penelitian. Berdasarkan hasil analisis statistik pada Tabel 8, rata-rata penambahan bobot badan pada perlakuan kontrol lebih rendah ( $P=0,000$ ) dibandingkan dengan perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*. Pertambahan bobot badan perlakuan antibiotika lebih rendah ( $P=0,007$ ) dibandingkan dengan perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*. Sementara itu, kenaikan level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* tidak memberikan respon baik dalam bentuk linier ( $P=0,211$ ) maupun respon secara kuadratik ( $P=434$ ) terhadap penambahan bobot badan broiler.

Rata-rata tingkat konversi pakan perlakuan kontrol lebih tinggi ( $P=0,001$ ) dibandingkan dengan rata-rata konversi pakan dengan perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*. Perlakuan pemberian antibiotika menunjukkan tingkat konversi ransum yang lebih tinggi ( $P=0,001$ )

dibandingkan dengan perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, dan kenaikan level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* memberikan respon yang secara linier ( $P=0,030$ ) menurun sejalan dengan peningkatan level *Lactococcus lactis ssp lactis 2*.

Rata-rata konsumsi komulatif yang tidak berbeda diantara kelima perlakuan disebabkan ransum penelitian yang digunakan adalah sama, baik komposisi bahan makanan maupun kandungan zat nutrisinya, khususnya kandungan energi dan protein yang sama. Faktor paling utama mempengaruhi konsumsi ransum adalah kandungan energi metabolisme dan ayam akan berhenti makan apabila kebutuhan akan energi sudah terpenuhi. Anggorodi (1995) menyatakan bahwa jumlah konsumsi ransum sangat ditentukan oleh kandungan energi dalam ransum. Konsumsi ransum akan turun jika kandungan energi dalam ransum tinggi dan sebaliknya konsumsi pakan akan naik jika kandungan energi dalam ransum rendah guna memenuhi kebutuhan akan energi, selanjutnya dikatakan ayam akan berhenti makan jika kebutuhan energinya sudah tercukupi.

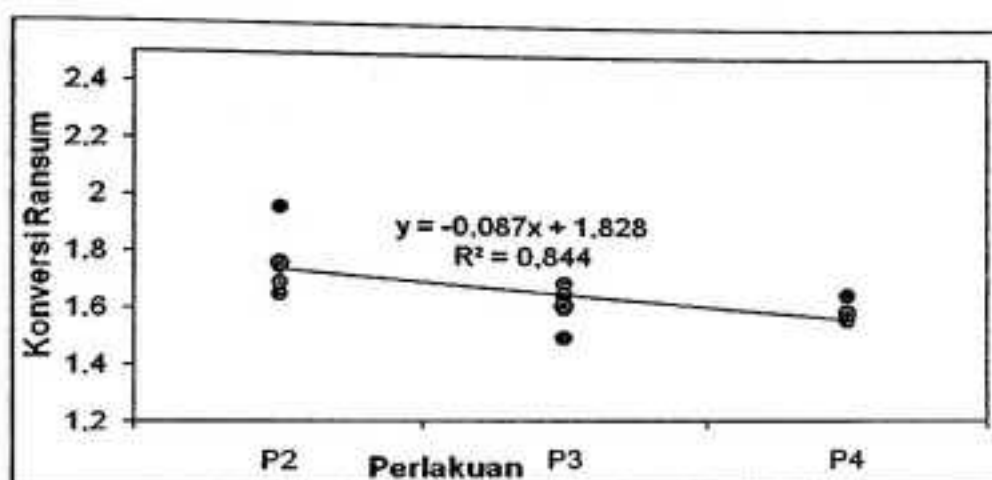
Rata-rata pertambahan bobot badan broiler yang tinggi pada perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2* memberi indikasi bahwa BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* mampu memperbaiki penggunaan nutrisi makanan melalui peningkatan efisiensi proses pencernaan atau peningkatan kecernaan senyawa-senyawa yang awalnya tidak tercerna, dapat menjaga keseimbangan komposisi mikroorganisme dalam sistem

pencernaan dengan kemampuannya menghasilkan senyawa antimikroba antara lain asam laktat yang berpengaruh terhadap penurunan pH saluran pencernaan yang mencegah kolonisasi bakteri patogen dalam usus, sehingga absorpsi zat makanan dalam usus meningkat dan berpengaruh terhadap meningkatnya daya cerna yang akhirnya akan meningkatkan penambahan bobot badan.

Pemberian BAL dapat meningkatkan jumlah villi – villi usus dan meningkatkan penyerapan zat makanan dalam usus, yang berakibat meningkatnya daya cerna bahan pakan dan menjaga kesehatan ternak, serta menyediakan beberapa enzim yang mampu mencerna serat kasar, protein dan lemak (Wahyudi dan Samsundari, 2008; Zulkifli dkk, 2000). Hyden (2000) melaporkan bahwa, asam laktat sebagai salah satu acidifier mampu menjaga keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan dengan cara menekan pertumbuhan mikroba patogen dan meningkatkan pertumbuhan mikroba non patogen serta berfungsi menciptakan kondisi pH yang sesuai untuk pencernaan zat-zat makanan.

Penurunan konversi ransum secara linear pada level perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2* didukung oleh kenaikan konsumsi ransum lebih sedikit dibandingkan kenaikan penambahan berat badan, sehingga menghasilkan angka konversi pakan semakin kecil. Konversi ransum merupakan salah satu indikator yang dapat memberikan gambaran tingkat efisiensi penggunaan ransum. Semakin tinggi nilai konversi ransum menunjukkan semakin banyak ransum yang dibutuhkan untuk

meningkatkan bobot badan per satuan berat, sehingga makin rendah tingkat efisiensi penggunaan ransum. Sebaliknya, semakin rendah nilai konversi ransum maka semakin tinggi tingkat efisiensi penggunaan ransumnya. Sartika dkk (1994) melaporkan, penggunaan probiotik dapat memperbaiki performan broiler termasuk rataan bobot hidup dan konversi pakan.



Gambar 16. Kurva respon konversi ransum broiler oleh pengaruh level pemberian *Lactococcus lactis ssp lactis 2*

Pemberian *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam ransum pada level 0,5%, 1% dan 1,5 % yang masing-masing setara dengan  $6,5 \times 10^8$  cfu/kg,  $1,3 \times 10^9$  cfu/kg, dan  $1,95 \times 10^9$  cfu/kg menghasilkan nilai konversi pakan lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian Diaz (2008) yang melaporkan bahwa pemberian probiotik *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 pada broiler dengan dosis  $1 \times 10^9$  cfu/kg ransum diperoleh konversi ransum sebesar 1,84. Hal ini memberikan gambaran bahwa *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam ransum mampu melakukan perubahan flora dalam usus, meningkatkan pertumbuhan bakteri non patogen dan

menekan pertumbuhan patogen dalam usus sehingga mampu meningkatkan pencernaan dan pemanfaatan nutrisi, yang berdampak pada konversi ransum.

Hasil perhitungan indeks produksi broiler percobaan dari lima perlakuan selama penelitian disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Indeks produksi broiler selama 35 hari pada berbagai perlakuan

Peubah	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Persentase ayam hidup	95	90	95	100	90
Rataan bobot badan akhir (g/ekor)	1795,00	1895,00	1970,00	2047,50	2045,00
Konversi ransum	1,84	1,83	1,76	1,61	1,59
Lama pemeliharaan (hari)	35	35	35	35	35
Indeks produksi	264,79	266,09	303,51	363,15	330,87
Prestasi	istimewa	istimewa	istimewa	istimewa	Istimewa

Indeks produksi tertinggi diperoleh pada perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini didukung oleh tingkat konversi pakan yang rendah. Semakin tinggi indeks produksi, maka semakin baik performan ayam pedaging. Hal ini memberi indikasi bahwa ransum mengandung *Lactococcus lactis ssp lactis 2* merupakan ransum paling efisien untuk mencapai pertumbuhan maksimal dan lebih menguntungkan apabila dibandingkan dengan ransum perlakuan kontrol dan ransum perlakuan antibiotika.

## C.2. Persentase karkas dan lemak abdominal Broiler

Data persentase karkas dalam penelitian ini berasal dari karkas kosong yaitu karkas tanpa kepala, leher, bulu, darah, kaki dan isi organ dalam. Hasil analisis statistik persentase karkas broiler percobaan selama 35 hari pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil analisis statistik persentase karkas dan lemak abdominal broiler percobaan pada berbagai perlakuan selama 35 hari

Uraian	Karkas (%)			Significant
	P0	P1	P2,P3 dan P4	
<b>Karkas (%)</b>				
Kontras P0 Vs P2 P3 P4	66,75		69,14	0,002
Kontras P1 Vs P2 P3 P4		67,8		0,057
Kontras Probiotik :				
Linier				0,032
Kuadratik				0,916
<b>Lemak Abdominal (%)</b>				
Kontras P0 Vs P2 P3 P4	3,23		2,78	0,206
Kontras P1 Vs P2 P3 P4		2,79	2,78	0,977
Kontras Probiotik :				
Linier				0,455
Kuadratik				0,068

Keterangan: P0 = Tanpa pemberian kultur kering BAL; P1= Pemberian antibiotik *Zinc bacitracin* 0,01%; P2 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 0,5 % ( 5 g/kg ~  $6,5 \times 10^8$  cfu/kg); P3 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 1 % (10 g/kg ~  $1,3 \times 10^9$  cfu/kg); P4 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 1,5 % (15 g/kg ~  $1,95 \times 10^9$  cfu/kg).

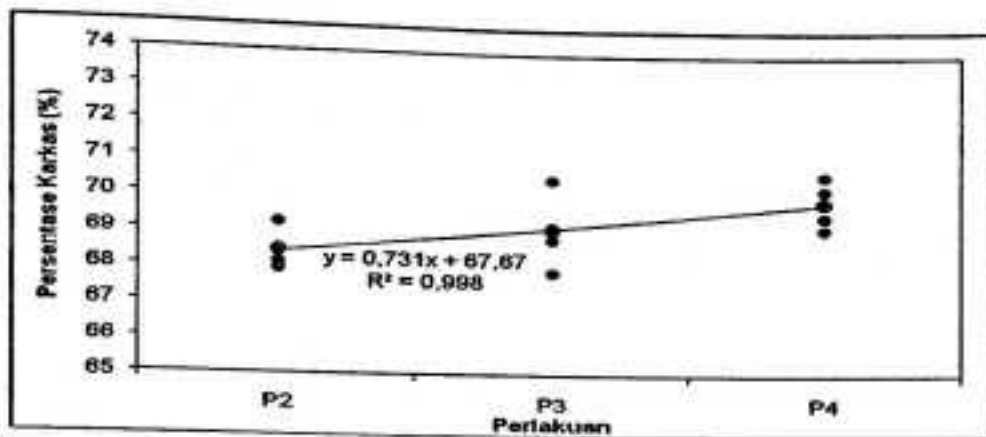
Hasil analisis statistik (Tabel 10), rata-rata persentase karkas perlakuan kontrol lebih rendah ( $P=0,002$ ) dibandingkan perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, dan rata-rata persentase karkas broiler perlakuan antibiotika tidak berbeda ( $P=0,057$ ) dengan perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*. Sementara itu, kenaikan level *Lactococcus*



*lactis ssp lactis 2* memberikan respon yang secara linier ( $P=0,032$ ) terhadap peningkatan persentase karkas.

Persentase karkas yang lebih tinggi pada perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2* sejalan dengan peningkatan bobot badan yang lebih tinggi dibanding perlakuan kontrol dan perlakuan antibiotika. Persentase karkas yang diperoleh pada penelitian ini berkisar 66,75 % sampai dengan 69,89 % dan masih berada pada kisaran normal. Donald dkk (2002) melaporkan bahwa persentase karkas broiler bervariasi antara 65% sampai dengan 75 % dari bobot hidup.

Estimasi nilai respon persentase karkas oleh pengaruh penambahan level BAL dapat dilakukan dengan menggunakan kurva respon seperti yang ditunjukkan pada Gambar 17. Koefisien arah (b) positif sebesar 0,731 yang bermakna bahwa setiap kenaikan level BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, dalam hal ini setiap penambahan 1 unit akan diikuti dengan kenaikan rata-rata persentase sebesar 0,731%. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) menunjukkan angka 0,998 yang bermakna bahwa kemampuan fungsi regresi yang diperoleh mampu menjelaskan fenomena hubungan antara kenaikan level BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dan persentase karkas sebesar 99,8%.



Gambar 17. Kurva respon persentase karkas broiler oleh pengaruh level pemberian *Lactococcus lactis ssp. lactis 2*.

Persentase lemak abdominal yang tidak berbeda antara kelima perlakuan didukung oleh tingkat konsumsi ransum yang tidak berbeda dan kandungan energi ransum yang sama antar perlakuan. Dengan demikian jumlah konsumsi energi juga sama untuk semua perlakuan, sehingga ayam mengkonsumsi energi tidak melebihi kebutuhannya dan tidak terjadi penghamburan energi secara berlebihan yang akhirnya akan ditimbun dalam bentuk lemak tubuh. Rata-rata persentase lemak abdominal broiler pada penelitian ini berkisar antara 2,36 % sampai dengan 3,30 % dan masih berada dalam kisaran normal.

Selain itu, pada masa pertumbuhan cepat yaitu umur 5 minggu lemak belum banyak terbentuk karena zat-zat makanan yang diserap oleh tubuh masih digunakan untuk pertumbuhan murni, sehingga belum terjadi kelebihan energi. Kelebihan energi dalam pakan dapat dirubah menjadi lemak tubuh dan deposisi lemak broiler umumnya dalam lemak bawah kulit dan lemak rongga tubuh termasuk lemak abdominal. Diduga efek

pemberian probiotik dalam menurunkan kadar lemak paha akan jelas terlihat pada saat timbunan lemak tubuh terbentuk.

### **C.3. Kolesterol darah, kolesterol ekskreta, kolesterol daging dada, dan kolesterol daging paha broiler**

Hasil analisis statistik kadar kolesterol serum darah, kolesterol ekskreta, kolesterol daging dada, dan kolesterol daging paha broiler umur 35 hari dari lima macam perlakuan disajikan pada Tabel 11.

Berdasarkan hasil analisis statistik pada Tabel 11, kadar kolesterol darah perlakuan kontrol lebih tinggi ( $P=0,021$ ) dibanding perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, tetapi kadar kolesterol darah perlakuan antibiotika tidak berbeda ( $P=0,471$ ) dengan kadar kolesterol perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, demikian juga level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* tidak menunjukkan respon secara linear ( $P=0,476$ ) maupun secara kuadratik ( $P=0,514$ ) terhadap kadar kolesterol darah.

Kadar kolesterol ekskreta perlakuan kontrol lebih rendah ( $P=0,013$ ) dibanding perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, dan kadar kolesterol ekskreta perlakuan antibiotika lebih rendah ( $P=0,041$ ) dibanding perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, tetapi level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* tidak menunjukkan respon secara linear ( $P=0,977$ ) maupun secara kuadratik ( $P=0,805$ ) terhadap peningkatan kadar kolesterol ekskreta.

Tabel 11. Hasil analisis statistik kolesterol serum darah, kolesterol ekskreta, kolesterol daging dada dan kolesterol daging paha broiler percobaan pada berbagai perlakuan selama 35 hari

Uraian	Perlakuan			Significant
	P0	P1	P2,P3, dan P4	
<b>Kolesterol darah (mg/100 ml)</b>				
Kontras P0 Vs P2 P3 P4	125,50		107,58	0,021
Kontras P1 Vs P2 P3 P4		112,75	107,58	0,471
Kontras Probiotik :				
Linier				0,476
Kuadratik				0,514
<b>Kolesterol ekskreta (mg/100 g)</b>				
Kontras P0 Vs P2 P3 P4	48,79		61,76	0,013
Kontras P1 Vs P2 P3 P4		51,46	61,76	0,041
Kontras Probiotik :				
Linier				0,977
Kuadratik				0,805
<b>Kolesterol Dada (mg/100 g)</b>				
Kontras P0 Vs P2 P3 P4	4,00		3,15	0,021
Kontras P1 Vs P2 P3 P4		4,03	3,15	0,017
Kontras Probiotik :				
Linier				0,280
Kuadratik				0,524
<b>Kolesterol Paha (mg/100 g)</b>				
Kontras P0 Vs P2 P3 P4	5,11		4,16	0,008
Kontras P1 Vs P2 P3 P4		4,83	4,16	0,050
Kontras Probiotik :				
Linier				0,022
Kuadratik				0,293

Keterangan: P0 = Tanpa pemberian kultur kering BAL; P1= Pemberian antibiotik *Zinc bacitracin* 0,01%; P2 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 0,5 % (5 g/kg ~  $6,5 \times 10^8$  cfu/kg); P3 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 1 % (10 g/kg ~  $1,3 \times 10^9$  cfu/kg); P4 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 1,5 % (15 g/kg ~  $1,95 \times 10^9$  cfu/kg).

Kadar kolesterol daging dada perlakuan kontrol lebih tinggi (P=0,021) dibanding perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, tetapi kadar kolesterol perlakuan antibiotika tidak berbeda (P=0,071) dengan kadar kolesterol dada perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*. Kadar

kolesterol daging paha perlakuan kontrol lebih tinggi ( $P=0,008$ ) dibandingkan dengan perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, dan kadar kolesterol daging paha perlakuan antibiotika lebih tinggi ( $P=0,050$ ) dibanding perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*.

Kenaikan level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* tidak menunjukkan respon menurun secara linear ( $P=0,280$ ) terhadap kadar kolesterol daging dada, tetapi menurun secara linear ( $P=0,022$ ) terhadap kadar kolesterol daging paha. Respon secara kuadratik belum terlihat atau belum teridentifikasi level optimum penambahan *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam mempengaruhi kolesterol dada dan paha. Sehingga dapat diasumsikan bahwa kenaikan level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dari nilai 1,5% dengan selang yang sama (0,5%) masih memungkinkan untuk menurunkan kolesterol daging paha.

Penurunan kadar kolesterol darah dan peningkatan kolesterol ekskreta yang diikuti oleh penurunan kadar kolesterol daging dada dan kolesterol daging paha pada penelitian ini menunjukkan bahwa, keberadaan probiotik *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam ransum memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan kadar kolesterol melalui asimilasi kolesterol oleh BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2*.

Kolesterol yang diasimilasi oleh BAL tidak terserap dalam usus sehingga akan terbuang bersama dengan feses dalam bentuk terinkorporasi bersama BAL yang akan terdeteksi pada ekskreta (Walker dan Gilliland, 1993). Sehingga makin banyak kolesterol yang

terinkorporasi BAL, maka semakin banyak kolesterol yang terdeteksi dalam ekskreta broiler yang akan berdampak langsung terhadap penurunan jumlah kolesterol dalam darah. Asimilasi kolesterol pada saluran usus oleh bakteri menyebabkan kolesterol tidak dapat diserap oleh tubuh ke dalam darah sehingga menurunkan kolesterol darah.

Selain mampu mempengaruhi asimilasi kolesterol yang terjadi di dalam usus, diduga mekanisme lain penurunan kolesterol adalah kemungkinan adanya aktivitas enzim *bile salt hydrolase* yang dimiliki oleh *Lactococcus lactis ssp lactis 2* sebagai salah satu BAL melalui dekonyugasi garam empedu. Dekonyugasi garam empedu akan meningkatkan asam empedu terdekonyugasi yang tidak dapat diserap oleh usus halus sehingga jumlah asam empedu yang kembali ke hati akan berkurang, untuk menyeimbangkan jumlah asam empedu maka tubuh akan mengambil kolesterol tubuh karena kolesterol merupakan prekursor pembuatan asam empedu di dalam hati. Siklus ini akan berlangsung terus, sehingga katabolisme kolesterol semakin cepat dan akhirnya dapat mengurangi penumpukan kolesterol. Proses ini akan menurunkan kolesterol secara keseluruhan. (Gilliland, 1990; Harmayani dkk, 2003; Liong dan Shah, 2005).

Rata-rata kolesterol darah broiler pada penelitian ini masih tergolong normal yaitu berkisar 103 mg/100 ml sampai dengan 125,5 mg/100 ml. Menurut Basmacioglu dan Ergul (2005) rata-rata kadar kolesterol darah ayam ras yaitu 52 mg/100 ml sampai dengan 148 mg/dl.

Perbedaan jumlah kolesterol darah ini tergantung pada makanan yang diberikan, umur, dan jenis kelamin. Penurunan kolesterol darah pada pemberian *Lactococcus lactis ssp lactis 2* diikuti oleh peningkatan kolesterol HDL dan penurunan kolesterol LDL darah.

Tabel 12. Hasil analisis statistik HDL dan LDL broiler percobaan pada berbagai perlakuan selama 35 hari

Uraian	Perlakuan			Significant
	P0	P1	P2,P3, dan P4	
<b>HDL (mg/100 ml)</b>				
Kontras P0 Vs P2 P3 P4	62,00		70,67	0,092
Kontras P1 Vs P2 P3 P4		69,75	70,67	0,851
Kontras Probiotik :				
Linier				0,357
Kuadratik				0,365
<b>LDL (mg/100 ml)</b>				
Kontras P0 Vs P2 P3 P4	56,25		30,00	0,001
Kontras P1 Vs P2 P3 P4		34,50	30,00	0,496
Kontras Probiotik :				
Linier				0,853
Kuadratik				0,847

Keterangan: P0 = Tanpa pemberian BAL; P1= Pemberian antibiotik *Zinc bacitracin* 0,01%; P2 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 0,5 % ( 5 g/kg ~  $6,5 \times 10^8$  cfu/kg); P3 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 1 % (10 g/kg ~  $1,3 \times 10^9$  cfu/kg); P4 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 1,5 % (15 g/kg ~  $1,95 \times 10^9$  cfu/kg).

Berdasarkan hasil analisis statistik (Tabel 12), kadar kolesterol HDL antara kelima perlakuan tidak menunjukkan perbedaan, tetapi kadar LDL perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2* lebih rendah ( $P=0,001$ ) dibanding dengan perlakuan kontrol, dan kenaikan level probiotik tidak memberikan respon baik dalam bentuk linier maupun kuadratik terhadap peningkatan kolesterol HDL maupun terhadap penurunan kolesterol LDL darah. Namun secara numerik, rata-rata kolesterolr HDL darah broiler

yang mendapatkan perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2* lebih tinggi dibanding perlakuan kontrol dan perlakuan antibiotik. Peningkatan kolesterol HDL pada penelitian ini diikuti oleh penurunan kolesterol LDL darah.

High density lipoprotein (HDL) merupakan lipoprotein yang membantu membawa kolesterol dari jaringan ke hati dan selanjutnya diubah menjadi asam empedu. Level HDL yang tinggi dalam darah dapat mengurangi tumpukan kolesterol, sedangkan kolesterol LDL berfungsi mentransfer kolesterol dari hati ke jaringan tubuh, sehingga level LDL yang tinggi dalam darah dapat menyebabkan kolesterol terdeposit dalam pembuluh darah yang dapat memicu terjadinya atherosklerosis. Oleh karena itu semakin kecil perbandingan kolesterol LDL dan HDL, maka semakin kecil resiko terjadinya penumpukan kolesterol dalam pembuluh darah atau atherosklerosis.

#### **C.4. Lemak daging dada dan lemak daging paha broiler**

Hasil analisis statistik lemak daging dada dan lemak daging paha broiler umur 35 hari dari lima macam perlakuan disajikan pada Tabel 13.

Berdasarkan Tabel 13, kadar lemak dada perlakuan kontrol lebih tinggi ( $P=0,005$ ) dibanding perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, dan kadar lemak dada perlakuan antibiotika lebih tinggi ( $P=0,003$ ) dibanding perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*. Kenaikan level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* tidak memberikan respon baik dalam bentuk linier



( $P=0,198$ ), maupun kuadrat ( $P=0,646$ ) terhadap penurunan kadar lemak dada.

Persentase lemak paha perlakuan kontrol tidak berbeda ( $P=0,127$ ) dengan perlakuan penambahan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, dan perlakuan antibiotika ( $P=0,182$ ) tidak berbeda dengan perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2*. Kenaikan level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* tidak memberikan respon baik dalam bentuk linier ( $P=0,228$ ), maupun kuadrat ( $P=0,790$ ) terhadap penurunan kadar lemak paha.

Tabel 13. Analisis statistik lemak daging paha dan lemak daging dada broiler percobaan pada berbagai perlakuan selama 35 hari.

Uraian	Perlakuan			Significant
	P0	P1	P2,P3, dan P4	
<b>Lemak daging dada (%)</b>				
Kontras P0 Vs P2 P3 P4	1,44		0,81	0,005
Kontras P1 Vs P2 P3 P4		1,49	0,81	0,003
Kontras Probiotik :				
Linier				0,198
Kuadrat				0,646
<b>Lemak daging Paha (%)</b>				
Kontras P0 Vs P2 P3 P4	2,17		1,41	0,127
Kontras P1 Vs P2 P3 P4		2,07	1,41	0,182
Kontras Probiotik :				
Linier				0,228
Kuadrat				0,790

Keterangan: P0 = Tanpa pemberian BAL; P1= Pemberian antibiotik *Zinc bacitracin* 0,01%; P2 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 0,5 % ( 5 g/kg ~  $6,5 \times 10^8$  cfu/kg); P3 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 1 % (10 g/kg ~  $1,3 \times 10^9$  cfu/kg); P4 = Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* 1,5 % (15 g/kg ~  $1,95 \times 10^9$  cfu/kg).

Meskipun secara statistik peningkatan level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* tidak menunjukkan respon secara linear maupun kuadratik terhadap penurunan kadar lemak daging dada dan paha, namun secara numerik menunjukkan bahwa level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* yang ditambahkan ke dalam ransum broiler umur 35 hari terlihat mampu menurunkan kadar lemak daging dada dan lemak daging paha. Penurunan kadar lemak daging (lemak dada dan lemak paha) diduga akibat penurunan kadar kolesterol dalam darah.

Kadar lemak daging dada broiler pada penelitian ini berkisar 0,6 % sampai dengan 1,49% dan lemak paha berkisar 0,99 % sampai dengan 2,17 %. Kadar lemak ini masih lebih rendah dibanding yang dikemukakan oleh Mounthey (1995) bahwa kandungan lemak karkas ayam berkisar antara 1,3% sampai dengan 7,3%.

## Pembahasan Umum

Hasil isolasi BAL dari feses broiler diperoleh 10 isolat BAL dengan karakteristik Gram positif, uji katalase negatif, dan tipe homofermentatif, dengan kode isolat yaitu: M1, M2, M3, M4, M5, M7, M8, M23, M26 dan M28. Selanjutnya dilakukan seleksi isolat BAL terhadap ketahanan kondisi dalam saluran pencernaan.

Seleksi BAL mencakup kemampuan BAL dalam menekan bakteri patogen, ketahanan BAL terhadap garam empedu 0,3%, ketahanan BAL terhadap pH asam yaitu pH 2, pH3, dan pH 4, serta ketahanan BAL terhadap suhu yang mencakup suhu runag 30°C, suhu tubuh broiler 41°C, dan 37°C sebagai kontrol.

Hasil uji aktivitas antimikroba BAL terhadap bakteri patogen menunjukkan pada umumnya bakteri *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 yang tergolong bakteri Gram negatif mempunyai ketahanan yang lebih baik dibanding bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 yang tergolong bakteri Gram positif. Kisaran diameter penghambatan isolat BAL terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* berturut-turut adalah 7,8 mm sampai dengan 12,7 mm dan 6,3 mm sampai dengan 9,7 mm.

Perbedaan aktivitas BAL dalam menghambat bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 dan *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 disebabkan perbedaan produksi asam laktat sebagai senyawa antimikroba yang dihasilkan selama proses fermentasi dan perbedaan

dinding sel bakteri patogen. Asam laktat yang dihasilkan isolat BAL mengakibatkan akumulasi produk akhir asam dan penurunan pH yang menyebabkan penghambatan terhadap bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif yang tidak tahan terhadap kondisi pH yang relatif rendah. Selain itu, perbedaan aktivitas BAL dalam menghambat bakteri patogen *Salmonella typhimurium* FNCC dan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 (Gram positif) disebabkan oleh perbedaan komponen dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 yang tergolong bakteri Gram positif dan bakteri *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 yang tergolong bakteri Gram negatif.

Aktivitas penghambatan dari kesepuluh isolat BAL terlihat bahwa isolat M1 menghasilkan penghambatan yang tertinggi terhadap kedua bakteri uji dibanding isolat lainnya, hal ini didukung dengan produksi asam laktat dari isolat M1 lebih tinggi dibanding isolat lainnya dan pH akhir inkubasi.

Ketahanan terhadap pH asam merupakan syarat utama suatu isolat BAL bermanfaat sebagai probiotik agar dapat bertahan hidup di dalam saluran pencernaan, karena stres pertama terjadi pada sel bakteri saat memasuki saluran pencernaan adalah terpapar pada asam lambung, semua mikroba yang berhasil bertahan pada kondisi pH rendah dinyatakan bersifat tahan atau resisten terhadap asam. Ketahanan BAL terhadap pH asam dilakukan pada pH medium 2, 3, dan 4.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa kesepuluh isolat BAL memiliki ketahanan yang berbeda terhadap pH asam atau pH rendah meskipun isolat BAL tersebut diisolasi dari dari sumber yang sama. Meskipun kemampuan bertahan isolat BAL pada pH rendah tidak cukup baik ditandai dengan terjadi penurunan jumlah koloni dalam unit log/ml yang tinggi pada kondisi asam terutama pada pH 2, tetapi semua isolat masih mampu hidup pada pH tersebut sehingga masih terdapat sel yang lolos hidup pada saat melewati proventrikulus.

Setiap isolat BAL memiliki ketahanan berbeda terhadap pH 2, pH 3, dan pH 4 meskipun isolat BAL tersebut diisolasi dari dari sumber yang sama. 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 2 dan pH 4 yang tertinggi 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.

Semua isolat BAL mampu tumbuh pada media yang mengandung garam empedu 0,3%, dan memiliki ketahanan yang yang lebih besar dibanding terhadap kondisi asam ditandai dengan rata-rata penurunan

jumlah koloni yang lebih kecil. 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 penurunan jumlah koloni yang bervariasi, namun kesepuluh isolat BAL yang diisolasi dari feses broiler mampu tumbuh pada konsentrasi garam empedu 0,3% dan ini mengindikasikan bahwa isolat BAL dari feses broiler ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai probiotik. Isolat M1, M23 dan M26 memiliki ketahanan yang baik terhadap garam empedu, hal ini ditunjukkan dengan penurunan jumlah koloni kurang dari 1 unit log/ml (lebih resisten).

Isolat BAL sebagai kandidat probiotik harus mampu bertahan hidup pada suhu saat dikonsumsi maupun kondisi suhu pada saat berada di dalam saluran pencernaan karena suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh langsung pada pertumbuhan dan daya hidup mikroba serta mempengaruhi aktivitas enzim yang mengkatalis reaksi-reaksi biokimia di dalam sel mikroba.

Kesepuluh isolat BAL yang diisolasi dari feses broiler mempunyai ketahanan berbeda terhadap suhu 30°C, 37°C dan suhu 41°C yang ditandai dengan penurunan jumlah koloni berbeda. 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 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. 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.

Isolat BAL terpilih untuk digunakan sebagai probiotik pada uji *in vivo* adalah isolat yang memiliki kemampuan menghambat bakteri patogen dan ketahanan terhadap kondisi saluran pencernaan meliputi ketahanan terhadap pH rendah, ketahanan terhadap garam empedu dan ketahanan terhadap suhu ditunjukkan dengan penurunan jumlah koloni yang kecil. Berdasarkan karakteristik penghambatan terhadap mikroorganisme patogen dan karakteristik pertumbuhan pada MRSB pada berbagai kondisi saluran pencernaan maka isolat M1 sebagai isolat terpilih dan dilakukan identifikasi isolat M1 dengan menggunakan perangkat API 50 CHL kit M1, dan teridentifikasi sebagai BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2*.

Aplikasi isolat BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam ransum broiler sebagai imbuhan pada level berbeda, belum memperlihatkan perbedaan yang nyata terhadap konsumsi kumulatif dan penurunan lemak abdominal. Perbedaan yang tidak nyata antara perlakuan terhadap konsumsi kumulatif dan kandungan lemak abdominal disebabkan ransum penelitian yang digunakan adalah sama, baik komposisi bahan makanan maupun kandungan zat nutrisinya, khususnya kandungan energi dan protein yang sama. sehingga ayam mengkonsumsi energi tidak melebihi kebutuhannya dan tidak terjadi penghamburan energi secara berlebihan yang akhirnya akan ditimbun dalam bentuk lemak tubuh. Faktor paling utama mempengaruhi konsumsi ransum adalah kandungan energi

metabolisme dan ayam akan berhenti makan apabila kebutuhan akan energi sudah terpenuhi.

Rata-rata penambahan bobot badan broiler yang mendapat perlakuan *Lactococcus lactis ssp lactis 2* nyata lebih tinggi dibanding dengan perlakuan lainnya diikuti oleh penurunan konversi ransum dan persentase karkas yang lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya. Hal ini memberi indikasi bahwa BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dapat membantu pencernaan zat-zat makanan yang dibutuhkan pertumbuhan ayam, meningkatkan metabolisme zat-zat makanan serta meningkatkan daya cerna yang akhirnya akan meningkatkan penambahan bobot badan broiler.

Penurunan kolesterol darah dan peningkatan kadar kolesterol ekskreta pada perlakuan BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam penelitian ini diikuti oleh peningkatan kolesterol HDL dan penurunan kolesterol LDL darah, serta penurunan kadar kolesterol daging dada dan daging paha. Kenaikan level *Lactococcus lactis ssp lactis 2* menunjukkan pengaruh nyata secara linear menurun terhadap kadar kolesterol daging dada dan kolesterol daging paha, tetapi respon secara kuadratik belum terlihat atau belum teridentifikasi level optimum penambahan *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam mempengaruhi kolesterol dada dan paha. peningkatan kolesterol ekskreta dan penurunan kadar kolesterol darah yang diikuti oleh penurunan kadar kolesterol daging dada dan kolesterol daging paha pada penelitian ini menunjukkan bahwa



keberadaan probiotik *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam ransum broiler, selain mampu mempengaruhi asimilasi kolesterol yang terjadi di dalam usus, juga melakukan dekonyugasi garam empedu karena adanya aktivitas enzim *bile salt hydrolase* yang dimiliki oleh bakteri *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam membantu menurunkan kadar kolesterol secara umum.

Mekanisme lain penurunan kolesterol darah selain secara langsung melalui asimilasi kolesterol oleh BAL adalah secara tidak langsung melalui dekonyugasi garam empedu oleh aktivitas enzim BSH (*bile salt hydrolase*) yang dihasilkan oleh BAL. Dekonyugasi garam empedu akan meningkatkan asam empedu terdekonyugasi yang tidak dapat diserap oleh usus halus sehingga jumlah asam empedu yang kembali ke hati akan berkurang, untuk menyeimbangkan jumlah asam empedu maka tubuh akan mengambil kolesterol tubuh karena kolesterol merupakan prekursor pembuatan asam empedu di dalam hati. Siklus ini akan berlangsung terus, sehingga katabolisme kolesterol semakin cepat dan akhirnya dapat mengurangi penumpukan kolesterol. Proses ini akan menurunkan kolesterol secara keseluruhan.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan, maka disimpulkan :

1. Isolat BAL M1 yang diisolasi dari feses broiler dan teridentifikasi sebagai bakteri *Lactococcus lactis ssp lactis 2*, memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 dan *Salmonella typhimurium* FNCC 0050 yang lebih baik dibanding isolat lainnya, serta mampu bertahan hidup pada simulasi kondisi saluran pencernaan sehingga berpotensi dijadikan sebagai kandidat probiotik.
2. BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* sebanyak 0,5%, 1% dan 1,5 % yang masing-masing setara dengan  $6,5 \times 10^8$  cfu/kg,  $1,3 \times 10^9$  cfu/kg dan  $1,95 \times 10^9$  cfu/kg ransum, tidak mempengaruhi konsumsi ransum dan kadar lemak abdominal, tetapi mampu meningkatkan pertambahan bobot badan, menurunkan konversi ransum, menurunkan kolesterol daging dada dan kolesterol daging paha, serta menurunkan lemak daging dada lebih baik dibanding dengan perlakuan antibiotika dan perlakuan kontrol.

3. Pemberian BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* pada level 1,5% memberikan konversi ransum lebih baik, persentase karkas yang lebih tinggi, dan kolesterol daging paha yang lebih rendah dibanding level 0,5% dan 1 %.

## B. Saran

1. Penggunaan BAL *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam ransum broiler dapat direkomendasikan untuk dipakai sebagai imbuhan pakan dalam ransum broiler sebagai pengganti antibiotika.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mengkaji peranan *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam proses pencernaan makanan dan mengetahui efektifitas *Lactococcus lactis ssp lactis 2* dalam bentuk produk kultur campuran BAL sebagai imbuhan pakan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M.R, and M.O. Moss. 1997. *Food Microbiology*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Ahmad, I. 2006. Effect of probiotics on broilers performance. *J. Poultry.sci* 5(6): 593-597.
- Alander, M., R. Satokar., R. Korpela., M. Saxelin., T.V. Salmela, T.M. Sandholm, and A von Wright. 1999. Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG, after oral consumption. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 65(1): 351-354.
- Amrullah, I.K. 2004. *Nutrisi Ayam Broiler*. Lembaga Satu Gunungbudi, Bogor.
- Anonim. 2009. Pentingnya Suplementasi Ransum. (<http://info.medion.co.id>. Diakses 3 Maret 2011).
- Anggorodi, K. 1995. *Ilmu Nutrisi Unggas*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- AOAC, 1995. *Official Methods of Analysis*. Virginia : The Association of Official Analytical and Chemists. 16<sup>th</sup> ed. Arlington. AOAC Inc.
- Arifien, M.1997. Kiat menekan konversi pakan pada ayam broiler. Edisi Januari. *Poultry Indonesia*. 203(1): 11-12.
- Arslan. C. 2004. Effect of dietary probiotic supplementation on growth performance in the rock partridge (*Alectoris graeca*). Turkish. *J. Vet. Anim. Sci.* 28:887-891.
- Axelsson, L. T. 1998. *Lactic Acid Bacteria Classification and Physicy*. In: *Lactic Acid Bacteria*. S. Salminen and A. V. Wright (eds). Marcel Dekker Inc. New York.
- Baron, E.J., L.R.Peterson, and S.M. Finegold. 1994. *Bailey and Scott's Diagnostic Mikrobiologi*. Mosby, USA.
- Basmacioglu, H, and M. Ergul. 2005. Research on the factor affecting cholesterol content and some other characteristics of eggs in laying hens. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 29: 157-164.

- Buckle, K. A., R.A. Edwards., G. H. Fleet, and M. Wootton. 2007. *Ilmu Pangan*. Terjemahan : Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Budiansyah, A. 2004. Pemanfaatan probiotik dalam meningkatkan penampilan produksi ternak unggas. Institut Pertanian Bogor. (<http://www.telkom.net/Sains/PPs702>, Diakses 2 April 2010) .
- Budiarto, Y. 2006. Penggunaan kandidat probiotik bakteri asam laktat untuk menggantikan antibiotik dalam pakan broiler. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Carter, 1979. *Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology*. Third Edition. Charles C. Thomas Publisher, Illinois, U.S.A.
- 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.
- Choudhari. A., S. Shinde, and B.N. Ramteke. 2008. Prebiotic and probiotics as health promoter. *Veterinary Word*, Vol.1(2): 59-61.
- Cotter, P. D, And C. Hill. 2003. Surviving The acid test : Responses of Gram positive bacteria to low pH. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67(3): 429-453.
- Daud, M., W. G. Piliang, dan I. P. Kompiang. 2007. Persentase dan kualitas Ayam pedaging yang diberi probiotik dan prebiotik dalam Ransum. *JITV* 12(3): 167-174.
- Denli, M.. F. Okan, and K. Celik. 2003. Effect of dietary probiotic, organic acid, and antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. *J. Nutr.* 2(2): 89-91.
- Diaz, D. 2008. Safety and efficacy of Ecobiol (*Bacillus amyloliquefaciens*) as feed additive for chickens for fattening. *The EFSA journal* 773: 2-13.
- Djide, M.N. 2010. Bakteri Asam Laktat sebagai Probiotik dan Prospek Pengembangannya sebagai Sediaan Komplemen untuk Penyakit degeneratif. Pidato Penerimaan Jabatan Guru Besar di UNHAS.
- Djouvinov, D., S. Boicheva., T.Simeonova, and T. Vlaikova. 2005. Effect of feeding lactina probiotic on performance, some blood parameters,

- and caecal microflora of male ducklings. *Trakia. J. of sci.* Vol 3(2):22-28.
- Donald, D., J.R. Weaver, and W. Daniel. 2002. *Commercial chicken meat and egg production*. 5<sup>th</sup> Edition. Kluwer Academic Publisher. California.
- Drago, L., M., R. Gismondo, A. Lombardi., C de Haen, dan L. Gozzini. 1997. Inhibition of in vitro growth of enteropathogens by New *Lactobacillus* isolates of human intestinal origin. *FEMS Microbiology Letters*. 153 : 455-463.
- Engberg, R.M., M.S. Hedemann., T.D. Leser, and B.B. Jensen. 2000. Effect of Zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. *Poult. Sci.* 79: 1311-1319.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Tama, Jakarta.
- Frazier, W.C, and D.C Westhoff. 1988. *Food Microbiology*. 4<sup>th</sup> Ed. Mc Graw-Hill Book Co., New York.
- Fuller R. 2002. Probiotic- What they are and What they do. <http://D:/Probiotic. What they are and What they do, html>.
- Ghiyashi, M., M. Rezae, and H. Sayyahzadeh. 2007. Effect of prebiotic (Fermacto) in low protein diet on performance and carcass characteristic of broiler chick. *J. Poult. Sci* 6(9):661-665.
- Gibson, G.R, and R. Fuller. 2000. Aspects of in vitro an In vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human Use. *J. Nutr* 125: 1401-1412.
- Gilliland, S.E. 1990. *Bacterial Starter Culture for Food*. 5<sup>th</sup> Ed. CRC Press Inc. Florida.
- Gunat, M. G., O. Kaya, N. Karahan, and O. Sulak. 2006. The effect of antibiotic growth promotor, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora, and tissue broiler. *J. Poult. Sci* 5(2): 149-155.
- Hadioetomo, R.S. 1990. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek, Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Laboratorium Mikrobiologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB. Penerbit PT. Gramedia. Jakarta.

- Harmayani, E., E.S. Rahayu, dan Y. Marsono. 2003. Pengaruh pemberian sel *Lactobacillus sp* Dad13 pada profil lipida tikus *sprague dawley* yang diberi diet hiperkolesterol. *PATPI*. Yogyakarta.
- Havenaar, R., B.T. Birk, and J.H.J. Huis. 1992. Selection of Strains for Probiotics Use. *In : Probiotic the Scientific Basic*. R.Fuller (Ed). Chapman and Hall. London.
- Hill, M. J. 1995. *Role of Gut Bacteria in Human Toxicology and Pharmacology*. Taylor, New York.
- Hutkins, R.W, and N.L. Nannen. 1993. Eostatis in lactic acid bacteria. *J.Dairy Sci.* 76: 2354-2365.
- 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.
- Jay, J.M. 2000. *Modern Food Microbiology*. 6th Ed. Apsen Publishers, Inc., Maryland.
- Jin, L.Z., Y.W.Ho., M.A.Ali, and S.Jalaludin. 1998. Effect of adherent *Lactobacillus* cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broilers. *Anim. Feed. Sci Tech.* 70:197-209.
- Jung, S.J., R. Houde., B. Baurhoo., X. Zhao., and B. H. Lee. 2008. Effect of galacto-oligosaccharides and bifidobacteria lactis based probiotic strain on the growth performance and fecal microflora of broiler chickens. *J. Poultry Sci.* 87: 1694-1699.
- Kozaki, M., Y. Uchimura, and S. Okada. 1992. *Manual for Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria*. Asakura Shoten. Tokyo.
- Kralik, G., Z. Milakovic, and S. Ivankovic. 2004. Effect of probiotic supplementation on the performance and the composition of the intestinal microflora in broiler. *Act.agri. Kapo.* 8:23-31.
- Kusumawati, N., B. S. L. Jenie., S. Setyahadi, dan R.H. Hariyadi. 2003. Seleksi bakteri asam laktat indigenus sebagai galur probiotik dengan kemampuan menurunkan kolesterol. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* 8(2); 39-43.

- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Penerbit Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Leeson, S, and J.D.Summers, 2005. *Commercial Poultry Nutrition*. 3<sup>th</sup> Ed. University Books. Ontario.
- Liong, M.T, and N.P. Shah. 2005. Bile salt deconjugation ability, bile salt hydrolase activity and cholesterol co-precipitation ability of *Lactobacilli* Strain. *Int.J. Dairy. Sci.* 15: 391-398.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko., P.V.Dunlap, and D.P. Clarck. 2009. *Brock Biology of Microorganism*. Person Benjamin Cummings. San Fransisco.
- Mayes, P.A. 1995. *Sintesis, Pengangkutan dan Ekskresi Kolesterol*. Biokimia Harper (Harper's Biochemistry). Edisi 22. Penerbit buku kedokteran EGC.
- McNaught, C.E, and J. MacFie, 2000. Probiotics in clinical practice: a critical review of the evidence. *Nutr. Research* 21: 343-353.
- Mitsuoka, T. 1989. *A Profil of Intestine Bacteria Yakult*. Hansua Co. Ltd. Japan.
- Moser, S.A, and D.C. Savage. 2001. Bile salt hydrolase activity and resistance to toxicity of conjugated bile salt are unrelated properties in *Lactobacilli*. *J. App. Environ. Microbiol.* 67:3476-3480.
- 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.
- Muchtadi, D., Sri Palupi, N. dan Astawan, M. 1993. *Metabolisme Zat Gizi, Sumber, Fungsi dan Kebutuhan Bagi Tubuh Manusia*. Jilid II. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Naidu, A.S, and R.A. Clemens. 2000. *Probiotics*. Di dalam *Natural Food Antimicrobial System*. Naidu AS (Ed). CRC Press, LLC.
- Ngatirah, A., E.S. Harmayanti, dan T.Utami. 2000. Seleksi bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik yang berpotensi menurunkan kolesterol. Di Dalam : Prosiding Seminar Nasional Industri Pangan. *PATPI (II)* : 63-70.
- Nurhayati, S. 2008. *Seleksi dan identifikasi bakteri asam laktat yang berpoliferasi pada tembolok dan usus halus ayam kampung*. Tesis.



- Program Studi Peternakan. Jurusan Ilmu Pertanian. Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.*
- North, M. O, and D. Bell. 1990. *Commercial Chicken Production Manual*. 4<sup>th</sup> Ed. Chapman and Hall. London.
- Ouwehand, A.C., P.V. Kirjavainen., C. Shortt, and S. Salminen. 1999. Probiotic : Mechanism and established effect. *Int.J. Dairy. Sci.* 9 : 43-52.
- Ouwehand, A.C., and S. Salminen. 1998. The health effect of cultured milk products with viable and non-viable bacteria. *Int.J. Dairy Sci.* 8:74-76.
- Panda, A.K., M.R. Reddy., S.V.R. Rao, and N.K. Praharaj. 2003. Production Performance, serum/Yolk Cholesterol and Immune Competence of white leghorn layers as Influenced by Dietary Supplementation with Probiotic. *Trop. Anim.Health and Prod.* 35: 85-94.
- Parakkasi, A. 1990. *Ilmu Gizi dan Makanan Ternak Monogastrik*. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Parker, R.B. 1974. Probiotics the other half of the antibiotic story. *Anim. Nutr.Health* 29: 4-8.
- Patterson, J.A. 1992. *Encyclopedia of Microbiology*. Academic Press. London.
- Patterson, J.A. and K.M. Burkholder, 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *J. Poultry Sci.* 82: 627-631.
- Pelczar, M.J. and E.C.S Chan. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Perry, J., J.T. Staley, and S. Lory. 2002. *Microbial Life*. Sinauer Associates Inc. Massachusetts.
- Piliang, W.G. dan S. Djojoseobagio Al Haj. 2004. *Fisiologi Nutrisi. Vol.1*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat. Institut Pertanian Bogor.
- Pinuji, F.N. 2006. *Uji ketahanan bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan terhadap garam empedu*. Tesis. Fakultas Peternakan, UGM. Yogyakarta.

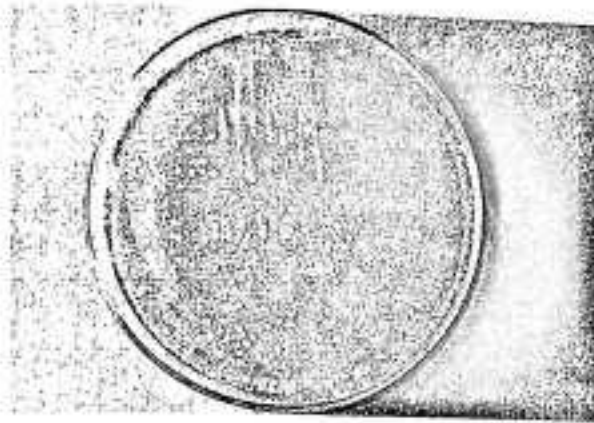
- Purwadaria, T., I.P.Kompiang., J. Darma, dan Supriyati. 2003. Penapisan bakteri yang tahan terhadap antibiotika untuk digunakan sebagai probiotik unggas. *JITV* 8(3): 151-156.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Cetakan I. Bumi Aksara, Jakarta.
- Rashid, H., K. Togo., M. Ueda., and T. Miyamoto. 2007. Probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented milk 'dahi' in Bangladesh. *J. Nutr.* 6(6): 647-652.
- Ramirez, R. F and B. A. Dixon. 2003. Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from oscars (*Astronotus ocellatus*), angel fish (*Pterophyllum scalare*) and southern sounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture*. 227: 417-426.
- Roe, M.T, and D. Pillai. 2003. Monitoring and identifying antibiotic resistance mechanisms in bacteria. *J. Poultry. Sci* 82:622-626.
- Rowghany, E., M. Arab, and A.Akbarian. 2007. Effect of a probiotic and other feed additives on performance and immune response of broiler chick. *J. Poultry Sci.* 82:622-625.
- Sa'id, E. G. 1987. *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi*. PT. Mediyatama Sarana Perkasa. Jakarta.
- Salminen, S and A. V. Wright. 1998. *Lactic Acid Bacteria*. Marcek dekker Inc. New York.
- Salminen, S., A. V. Wright, and A. Ouwehand. 2004. *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and funtional Aspects*. 3<sup>th</sup> Ed. Revised and Expanded. Marcel dekker, Inc., New York.
- Salminen, S., A. Ouwehand., Y.Beno, and Y.K.Lee. 1999. *Probiotic :how should they be defined*. Trends in Food Science and Technology.
- Samadi, 2008. Pro/Prebiotik, Asam Organik dan Enzim. *Infovet Edisi 168 Juli*.
- Sanders, M.E. 2000. Consideration for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J. Nut.* 130 : 384-390.
- Sartika, T.T., Rahayu, C dan Diwyanto K. 1994. *Penggunaan probiotik dalam ransum dengan tingkat protein yang berbeda terhadap performan ayam broiler*. Balitnak Ciawi. Bogor.

- Shin, T.H. 1996. *Practical uses of Yeast Culture (CYC-100) in Swine, Poultry and Ruminant Rations*. Choong Ang Chemical Co., Ltd. Seoul, Korea.
- Siegumfeldt, H., Rechnering Bkand Jacobsen, M. 2000. Dynamic changes of intracellular pH in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *App. Environ. Microbiol.* 66 : 2330-2335.
- 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.
- Spring. 1997. *Biotechnology in The Feed Industry of Alltech's 13 th*. Institute of Animal Sciences, Nutrition Biology. ETH Zurich, Switzerland.
- Stamer, J.R. 1979. The latic acid bacteria: Microbes of diversity. *Food Technol.*, 1:60-65.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2006a. *Cara uji mikrobiologi penentuan angka lempeng total pada produk perikanan*.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2006b. *Pakan Ayam Ras Pedaging*. (<http://ditiennak.go.id>. diakses 10 Februari 2011).
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. PT.Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Susanti, I., R. W. Kusumaningtyas, dan F. Illaningtyas. 2007. Uji sifat probiotik bakteri asam laktat sebagai kandidat bahan pangan fungsional. *J. Teknol. Ind. Pangan.* 18(2): 89-95.
- Tilman, A.D., H.Hartadi., S. Reksohadiprodjo., S. Prawirokusumo, dan S. Lebdosoekojo. 1998. *Ilmu Makanan Ternak dasar*. Cetakan ke-5. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- 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.
- Verschere, L., G. Rombaut., P. Sorgeloos, and W. Verstraete. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and molecular biology Review* 64:655-671.

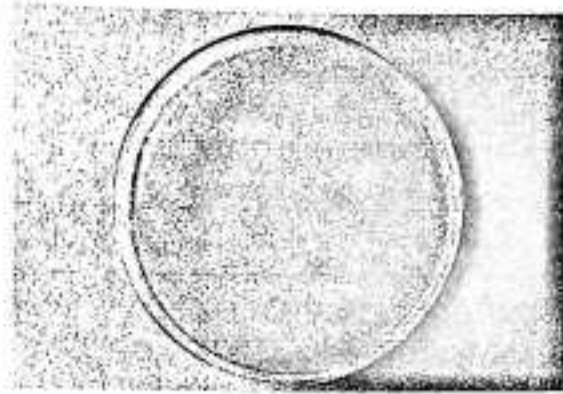
- Vinderola, C.G., N. Bailo, and J.A. Reinheimer. 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurt during refrigerated storage. *Food Res Int*, 33: 453-457.
- Wahju, J. 1997. *Ilmu Nutrisi Unggas*. Cetakan ke- 2. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Wahyudi, A. dan L.Hendraningsih. 2007. *Probiotik, Konsep dan Penerapan pada Ternak ruminansia*. UMM Press. Malang.
- Walker, D.K and S.E. Gilliland. 1993. Relationship among bile tolerance, bile salt deconjugation and assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci*. 76:956-961.
- Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Umum*. Cetakan II. UMM Press. Malang.
- Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Lacticia Press. Yogyakarta.
- Wirawati, C. U. 2002. Potensi bakteri asam laktat yang diisolasi dari tempoyak sebagai probiotik. Tesis. Program Pascasarjana, IPB.Bogor.
- Wirjantoro, T.I. 1993. Produksi Asam Laktat oleh Bakteri yang Diisolasi dari Air Rendaman Kedelai. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fateta, IPB- Bogor.
- Yeo, J., and K.Kim. 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or Yucca Extract on growth and intestinal urease activity in broiler chick. *J. Poultry. Sci*. 76:381-385.
- 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.
- Ziggers, D. 2000. Tos, a new probiotic derived from whey. *J. Anim. Feed. Sci. Tech*. 5:34-36.
- Zulkifli, I., N. Abdullah., N.M. Azrin, and Y.W. Ho. 2000. Growth performance and immune response of two commercial broiler strains feed diets containing *Lactobacillus* culture and Oxytetracycline under heat stress conditions. *J. Poult. Sci*. 41:593-597.
- Zuprizal, 2006. *Nutrisi dan Pakan Unggas*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

# LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar koloni BAL hasil isolasi pada feses broiler



Pengenceran  $10^7$



Pengenceran  $10^8$

Lampiran 2. Data hasil uji aktivitas isolat BAL terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*

Kode isolat	Daya hambat <i>S. aureus</i> (cm)				Daya hambat <i>S. typhimurium</i> (cm)			
	1	ulangan		Rerata	1	ulangan		Rerata
		2	3			2	3	
M1	1,22	1,27	1,32	1,27	1,01	0,99	0,92	0,97
M2	0,96	0,96	1,00	0,97	0,91	1,00	0,96	0,96
M3	0,77	0,81	0,77	0,78	0,63	0,63	0,62	0,63
M4	1,04	0,96	0,89	0,96	0,96	0,80	0,87	0,88
M5	0,95	1,04	0,96	0,98	0,84	0,78	0,74	0,79
M7	0,95	1,23	0,95	1,04	0,75	0,86	0,76	0,79
M8	0,87	0,96	1,04	0,96	0,92	0,82	0,90	0,88
M23	1,02	1,06	0,98	1,02	0,75	0,76	0,82	0,78
M26	0,91	1,04	0,93	0,96	0,82	0,80	0,75	0,79
M28	0,99	0,92	1,02	0,98	0,87	0,87	0,96	0,90

Lampiran 3. Ketahanan isolat BAL terhadap pH asam

A. Data hasil uji ketahanan isolat BAL terhadap pH 2

Kode Isolat	ulangan 1		ulangan 2	
	TPC awal	TPC akhir	TPC awal	TPC akhir
1	$1,5 \times 10^7$	$6,5 \times 10^3$	$1,1 \times 10^7$	$1,1 \times 10^4$
2	$1,7 \times 10^7$	$1,3 \times 10^3$	$1,0 \times 10^7$	$6,8 \times 10^3$
3	$4,2 \times 10^7$	$1,3 \times 10^2$	$2,8 \times 10^7$	$7,5 \times 10^1$
4	$3,3 \times 10^7$	$1,3 \times 10^3$	$5,4 \times 10^7$	$2,7 \times 10^3$
5	$1,8 \times 10^7$	$1,4 \times 10^3$	$4,9 \times 10^7$	$2,8 \times 10^3$
7	$1,7 \times 10^7$	$9,8 \times 10^2$	$1,0 \times 10^7$	$3,1 \times 10^3$
8	$1,4 \times 10^8$	$2,1 \times 10^3$	$1,8 \times 10^8$	$3,9 \times 10^3$
23	$1,3 \times 10^8$	$1,2 \times 10^3$	$2,5 \times 10^8$	$2,8 \times 10^3$
26	$1,5 \times 10^8$	$1,6 \times 10^3$	$3,4 \times 10^8$	$3,7 \times 10^3$
28	$1,4 \times 10^8$	$3,6 \times 10^3$	$1,3 \times 10^8$	$2,6 \times 10^3$

Kode Isolat	ulangan 1			ulangan 2			rata-rata selisih
	Log Awal	Log akhir	Selisih log	Log Awal	Log Akhir	Selisih log	
1	7,2	3,8	3,4	7,0	4,1	3,0	3,2
2	7,2	3,1	4,1	7,0	3,8	3,2	3,6
3	7,6	2,1	5,5	7,4	1,9	5,5	5,5
4	7,5	3,1	4,4	7,7	3,4	4,3	4,4
5	7,3	3,1	4,1	7,7	3,5	4,2	4,2
7	7,2	3,0	4,2	7,0	3,5	3,5	3,9
8	8,2	3,3	4,8	8,3	3,6	4,7	4,7
23	8,1	3,1	5,0	8,4	3,5	4,9	5,0
26	8,2	3,2	5,0	8,5	3,6	5,0	5,0
28	8,2	3,6	4,6	8,1	3,4	4,7	4,7



## Lampiran 3 (Lanjutan)

## B. Data hasil ketahanan isolat terhadap pH 3

Kode Isolat	Ulangan 1		Ulangan 2	
	TPC awal	TPC akhir	TPC awal	TPC akhir
1	$4,1 \times 10^7$	$2,3 \times 10^5$	$2,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^5$
2	$1,7 \times 10^8$	$1,9 \times 10^5$	$3,9 \times 10^8$	$3,5 \times 10^5$
3	$1,3 \times 10^8$	$4,2 \times 10^5$	$2,3 \times 10^8$	$8,1 \times 10^5$
4	$1,5 \times 10^7$	$1,0 \times 10^5$	$2,7 \times 10^7$	$2,0 \times 10^5$
5	$2,5 \times 10^7$	$3,0 \times 10^5$	$2,3 \times 10^7$	$5,0 \times 10^5$
7	$2,2 \times 10^7$	$9,5 \times 10^4$	$7,9 \times 10^7$	$1,7 \times 10^5$
8	$4,3 \times 10^7$	$2,1 \times 10^5$	$3,1 \times 10^7$	$1,3 \times 10^5$
23	$2,6 \times 10^7$	$2,3 \times 10^5$	$1,3 \times 10^7$	$2,7 \times 10^5$
26	$1,1 \times 10^8$	$1,5 \times 10^5$	$1,3 \times 10^8$	$2,6 \times 10^5$
28	$2,8 \times 10^8$	$2,1 \times 10^5$	$4,6 \times 10^8$	$3,8 \times 10^5$

Kode Isolat	ulangan 1			ulangan 2			Rata-rata selisih
	Log awal	Log akhir	Selisih log	Log awal	Log akhir	selisih log	
1	7,6	5,4	2,3	7,3	5,6	1,7	2,0
2	8,2	5,3	2,9	8,6	5,5	3,1	3,0
3	8,1	5,6	2,5	8,4	5,9	2,5	2,5
4	7,2	5,0	2,2	7,4	5,3	2,1	2,2
5	7,4	5,5	1,9	7,4	5,7	1,7	1,8
7	7,4	5,0	2,4	7,9	5,2	2,7	2,5
8	7,6	5,3	2,3	7,5	5,1	2,4	2,3
23	7,4	5,4	2,1	7,1	5,4	1,7	1,9
26	8,0	5,2	2,9	8,1	5,4	2,7	2,8
28	8,4	5,3	3,1	8,7	5,6	3,1	3,1

## Lampiran 3 (Lanjutan)

## C. Data hasil ketahanan isolat BAL terhadap pH 4

Kode Isolat	Ulangan 1		Ulangan 2	
	TPC awal	TPC akhir	TPC awal	TPC akhir
1	$2,1 \times 10^8$	$2,5 \times 10^7$	$2,6 \times 10^8$	$2,1 \times 10^7$
2	$1,3 \times 10^8$	$4,4 \times 10^6$	$1,2 \times 10^8$	$6,9 \times 10^5$
3	$7,8 \times 10^7$	$1,1 \times 10^6$	$1,0 \times 10^8$	$1,4 \times 10^6$
4	$5,6 \times 10^7$	$1,8 \times 10^6$	$6,3 \times 10^7$	$9,8 \times 10^5$
5	$3,5 \times 10^7$	$2,2 \times 10^6$	$2,1 \times 10^7$	$1,5 \times 10^6$
7	$2,1 \times 10^8$	$1,0 \times 10^7$	$2,6 \times 10^8$	$1,4 \times 10^7$
8	$1,5 \times 10^8$	$2,7 \times 10^6$	$1,1 \times 10^8$	$2,2 \times 10^6$
23	$2,5 \times 10^8$	$3,0 \times 10^6$	$2,2 \times 10^8$	$1,5 \times 10^5$
26	$1,8 \times 10^8$	$3,2 \times 10^6$	$1,5 \times 10^8$	$2,3 \times 10^6$
28	$2,6 \times 10^8$	$2,4 \times 10^6$	$1,5 \times 10^8$	$2,8 \times 10^6$

Kode Isolat	ulangan 1			ulangan 2			rata-rata selisih
	Log awal	Log akhir	selisih log	Log awal	Log akhir	selisih log	
1	8,3	7,4	0,9	8,4	7,3	1,1	1,0
2	8,1	5,6	2,5	8,1	5,8	2,2	2,4
3	7,9	6,0	1,8	8,0	6,1	1,9	1,9
4	7,8	6,3	1,5	7,8	6,0	1,8	1,7
5	7,5	6,3	1,2	7,3	6,2	1,2	1,2
7	8,3	7,0	1,3	8,4	7,1	1,3	1,3
8	8,2	6,4	1,7	8,0	6,3	1,7	1,7
23	8,4	6,5	1,9	8,3	5,2	3,2	2,5
26	8,3	6,5	1,8	8,2	6,4	1,8	1,8
28	8,4	6,4	2,0	8,2	6,4	1,7	1,9

Lampiran 4. Ketahanan Isolat BAL terhadap Garam empedu

Kode Isolat	ulangan 1		ulangan 2	
	TPC awal	TPC akhir	TPC awal	TPC akhir
1	$2,6 \times 10^8$	$3,4 \times 10^7$	$1,7 \times 10^8$	$4,1 \times 10^7$
2	$2,5 \times 10^8$	$4,1 \times 10^7$	$3,4 \times 10^8$	$1,2 \times 10^7$
3	$3,2 \times 10^8$	$3,5 \times 10^7$	$1,8 \times 10^8$	$5,6 \times 10^6$
4	$4,1 \times 10^8$	$1,6 \times 10^7$	$2,0 \times 10^8$	$4,2 \times 10^7$
5	$3,1 \times 10^8$	$9,5 \times 10^6$	$2,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^7$
7	$5,0 \times 10^8$	$7,4 \times 10^6$	$1,0 \times 10^8$	$8,5 \times 10^7$
8	$1,3 \times 10^8$	$2,2 \times 10^6$	$2,6 \times 10^8$	$7,6 \times 10^6$
23	$9,5 \times 10^7$	$7,8 \times 10^7$	$6,0 \times 10^8$	$8,9 \times 10^7$
26	$4,9 \times 10^7$	$9,8 \times 10^6$	$2,5 \times 10^8$	$2,3 \times 10^7$
28	$7,9 \times 10^7$	$7,4 \times 10^6$	$5,0 \times 10^8$	$3,5 \times 10^7$

Kode Isolat	ulangan 1			ulangan 2			rata-rata selisih
	Log awal	Log akhir	Selisih log	Log awal	Log akhir	Selisih log	
1	8,4	7,5	0,9	8,2	7,6	0,6	0,8
2	8,4	7,6	0,8	8,5	7,1	1,5	1,1
3	8,5	7,5	1,0	8,3	6,8	1,5	1,2
4	8,6	7,2	1,4	8,3	7,6	0,7	1,0
5	8,5	7,0	1,5	8,3	7,3	1,0	1,3
7	8,7	6,9	1,8	8,0	7,9	0,1	1,0
8	8,1	6,4	1,8	8,4	6,9	1,5	1,6
23	8,0	7,9	0,1	8,8	8,0	0,8	0,5
26	7,7	7,0	0,7	8,4	7,4	1,0	0,9
28	7,9	6,9	1,0	8,7	7,5	1,2	1,1

Lampiran 5 : Ketahanan isolat BAL terhadap suhu

A. Data hasil ketahanan isolat terhadap suhu 30°C

Kode Isolat	Ulangan 1		Ulangan 2	
	TPC awal	TPC akhir	TPC awal	TPC akhir
1	$3,1 \times 10^8$	$2,8 \times 10^7$	$2,5 \times 10^8$	$2,3 \times 10^7$
2	$2,6 \times 10^8$	$2,8 \times 10^7$	$3,4 \times 10^8$	$1,9 \times 10^7$
3	$3,2 \times 10^8$	$1,1 \times 10^7$	$2,6 \times 10^8$	$2,3 \times 10^7$
4	$2,5 \times 10^8$	$1,5 \times 10^7$	$3,3 \times 10^8$	$1,9 \times 10^7$
5	$4,6 \times 10^8$	$2,0 \times 10^7$	$3,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^7$
7	$1,9 \times 10^8$	$3,0 \times 10^7$	$2,8 \times 10^8$	$2,5 \times 10^7$
8	$1,5 \times 10^8$	$5,9 \times 10^6$	$2,1 \times 10^8$	$1,1 \times 10^7$
23	$1,9 \times 10^8$	$1,0 \times 10^7$	$2,8 \times 10^8$	$1,3 \times 10^7$
26	$9,3 \times 10^7$	$2,9 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	$2,2 \times 10^7$
28	$1,6 \times 10^8$	$1,9 \times 10^7$	$2,5 \times 10^8$	$2,4 \times 10^7$

Kode Isolat	ulangan 1			ulangan 2			rata-rata selisih
	Log awal	Log akhir	selisih log	Log awal	Log akhir	Selisih log	
1	8,5	7,4	1,1	8,4	7,4	1,0	1,0
2	8,4	7,4	1,0	8,5	7,3	1,3	1,1
3	8,5	7,0	1,5	8,4	7,4	1,0	1,3
4	8,4	7,2	1,2	8,5	7,3	1,2	1,2
5	8,7	7,3	1,4	8,5	7,1	1,4	1,4
7	8,3	7,5	0,8	8,5	7,4	1,1	0,9
8	8,2	6,8	1,4	8,3	7,0	1,3	1,4
23	8,3	7,0	1,3	8,4	7,1	1,3	1,3
26	8,0	7,5	0,5	8,1	7,3	0,7	0,6
28	8,2	7,3	0,9	8,4	7,4	1,0	1,0

## Lampiran 5 (Lanjutan)

## B. Data hasil ketahanan isolat BAL terhadap suhu 37°C

Kode Isolat	Ulangan 1		Ulangan 2	
	TPC awal	TPC akhir	TPC awal	TPC akhir
1	$3,1 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$
2	$2,6 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$3,4 \times 10^8$	$1,4 \times 10^8$
3	$2,2 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$
4	$2,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$3,3 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$
5	$4,6 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$3,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$
7	$1,9 \times 10^8$	$1,5 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$
8	$1,5 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$
23	$1,9 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$
26	$9,3 \times 10^7$	$3,9 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	$8,9 \times 10^7$
28	$1,6 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$

Kode Isolat	ulangan 1			ulangan 2			rata-rata selisih
	Log awal	Log akhir	selisih log	Log awal	Log akhir	Selisih log	
1	8,5	8,4	0,1	8,4	8,3	0,1	0,1
2	8,4	8,1	0,3	8,5	8,1	0,4	0,4
3	8,4	8,1	0,2	8,4	8,3	0,1	0,2
4	8,4	8,1	0,3	8,5	8,3	0,3	0,3
5	8,7	8,0	0,6	8,5	8,1	0,4	0,5
7	8,3	8,2	0,1	8,5	8,4	0,0	0,1
8	8,2	8,1	0,1	8,3	8,1	0,2	0,2
23	8,3	8,2	0,1	8,4	8,0	0,4	0,2
26	8,0	7,6	0,4	8,1	8,0	0,1	0,3
28	8,2	8,1	0,1	8,4	8,2	0,1	0,1



## Lampiran 5 (Lanjutan)

## C. Data hasil ketahanan isolat BAL terhadap suhu 41°C

Kode Isolat	Ulangan 1		Ulangan 2	
	TPC awal	TPC akhir	TPC awal	TPC akhir
1	$3,1 \times 10^8$	$2,9 \times 10^7$	$2,5 \times 10^8$	$2,0 \times 10^7$
2	$2,6 \times 10^8$	$1,2 \times 10^7$	$3,4 \times 10^8$	$1,6 \times 10^7$
3	$2,2 \times 10^8$	$1,6 \times 10^7$	$2,6 \times 10^8$	$1,5 \times 10^7$
4	$2,5 \times 10^8$	$2,0 \times 10^7$	$3,3 \times 10^8$	$2,5 \times 10^7$
5	$4,6 \times 10^8$	$1,6 \times 10^7$	$3,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^7$
7	$1,9 \times 10^8$	$2,6 \times 10^7$	$2,8 \times 10^8$	$1,9 \times 10^7$
8	$1,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^7$	$2,1 \times 10^8$	$2,0 \times 10^7$
23	$1,9 \times 10^8$	$1,9 \times 10^7$	$2,8 \times 10^8$	$1,7 \times 10^7$
26	$9,3 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	$3,2 \times 10^7$
28	$1,6 \times 10^8$	$1,1 \times 10^7$	$2,5 \times 10^8$	$6,6 \times 10^6$

Kode Isolat	ulangan 1			ulangan 2			rata-rata selisih
	Log awal	Log akhir	selisih log	Log awal	Log akhir	selisih log	
1	8,5	7,5	1,0	8,4	7,3	1,1	1,1
2	8,4	7,1	1,3	8,5	7,2	1,3	1,3
3	8,4	7,2	1,1	8,4	7,2	1,2	1,2
4	8,4	7,3	1,1	8,5	7,4	1,1	1,1
5	8,7	7,2	1,5	8,5	7,1	1,4	1,4
7	8,3	7,4	0,9	8,5	7,3	1,2	1,0
8	8,2	7,1	1,1	8,3	7,3	1,0	1,0
23	8,3	7,3	1,0	8,4	7,2	1,2	1,1
26	8,0	7,2	0,8	8,1	7,5	0,6	0,7
28	8,2	7,0	1,2	8,4	6,8	1,6	1,4

Lampiran 6. Rata-rata produktivitas broiler selama penelitian

A. Rata-rata konsumsi pakan kumulatif (g/ekor) perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	3274	3696,25	3868,75	3295	3094
2	3242	3280	3200	3166	3184
3	3238	3242	3352	3217	3220
4	3082	3346	3158	3199,67	3206
$\Sigma$	12836	13564,25	13578,75	12877,67	12704
rata-rata	3209,0	3391,1	3394,7	3219,4	3176,0

B. Rata-rata pertambahan bobot badan (g/ekor) selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	1774	1954,8	1976	2054	1874
2	1754	1836	1934	2114	2036
3	1758	1796	1916	1904	2036
4	1714	1816	1874	1936	2054
$\Sigma$	7000	7402,8	7700	8008	8000
rata-rata	1750	1850,7	1925	2002	2000

C. Rata-rata konversi pakan perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	1,85	1,89	1,96	1,6	1,65
2	1,85	1,79	1,65	1,5	1,56
3	1,84	1,81	1,75	1,69	1,58
4	1,8	1,84	1,69	1,65	1,56
$\Sigma$	7,34	7,33	7,05	6,44	6,35
rata-rata	1,84	1,83	1,76	1,61	1,59

## Lampiran 6 (lanjutan)

## D. Rata-rata karkas (%) perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	68,63	69,44	68,44	67,9	69,15
2	65,88	67,28	68,1	68,82	69,48
3	65,06	66,31	69,23	69,18	70,26
4	67,43	68,18	67,93	70,51	70,66
$\Sigma$	267	271,21	273,7	276,41	279,55
rata-rata	66,75	67,80	68,43	69,10	69,89

## E. Rata-rata lemak abdominal (%) perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	2,61	2,3	2,89	3,15	2,62
2	3,48	3,04	2,02	4,02	1,16
3	3,91	3,38	2,88	2,84	2,73
4	2,9	2,44	2,97	3,17	2,91
$\Sigma$	12,9	11,16	10,76	13,18	9,42
rata-rata	3,23	2,79	2,69	3,30	2,36

## F. Rata-rata kolesterol darah (mg/100ml) perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	133	119	118	119	113
2	129	89	100	122	86
3	115	128	117	107	104
4	125	115	101	95	109
$\Sigma$	502	451	436	443	412
rata-rata	125,50	112,75	109,00	110,75	103,00



## Lampiran 6 (Lanjutan)

## G. Rata-rata kolesterol ekskreta (mg/100 g)

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	36,02	42,79	58,20	48,50	59,33
2	59,20	55,49	69,80	72,40	71,26
3	48,15	59,40	62,70	59,40	56,64
4	51,80	48,15	57,60	63,60	61,69
total	195,17	205,83	248,30	243,90	248,92
rerata	48,79	51,46	62,08	60,98	62,23

## H. Rata-rata kolesterol daging dada (mg/100 g) perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	4,45	4,49	3,93	3,18	2,64
2	3,22	3,47	3,21	3,31	3,48
3	4,28	3,12	3,13	3,76	2,87
4	4,05	5,04	2,78	2,80	2,68
$\Sigma$	16	16,12	13,05	13,05	11,67
rata-rata	4,00	4,03	3,26	3,26	2,92

## I. Rata-rata kolesterol daging paha (mg/100 g) perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	4,25	4,27	4,75	4,81	3,5
2	5,46	5,75	4,25	3,95	4,28
3	5,90	4,77	4,07	4,64	3,56
4	4,84	4,51	4,81	4,00	3,35
$\Sigma$	20,45	19,3	17,88	17,4	14,69
rata-rata	5,11	4,83	4,47	4,35	3,67

J. Rata-rata HDL darah (mg/100 ml) perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	60	72	67	71	78
2	52	56	74	80	62
3	76	76	78	80	60
4	60	75	68	63	67
$\Sigma$	248	279	287	294	267
rata-rata	62,00	69,75	71,75	73,50	66,75

K. Rata-rata LDL darah (mg/100 ml) perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	66	34	44	42	27
2	70	25	20	28	19
3	31	44	32	20	36
4	58	35	28	27	37
$\Sigma$	225	138	124	117	119
rata-rata	56,25	34,50	31,00	29,25	29,75

L. Rata-rata lemak daging paha (%) perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	3,36	1,47	1,3	1,72	1,12
2	2,43	2,79	1,2	1,64	1,09
3	1,88	1,53	3,65	0,97	0,4
4	1,02	2,49	0,77	1,65	1,34
$\Sigma$	8,69	8,28	6,92	5,98	3,95
rata-rata	2,17	2,07	1,73	1,50	0,99

## Lampiran 6 (Lanjutan)

M. Rata-rata lemak daging dada (%) perlakuan selama penelitian

ulangan	P0	P1	P2	P3	P4
1	0,98	1,77	1,24	0,85	0,58
2	1,67	1,41	0,72	0,83	0,48
3	1,45	1,8	1,3	0,49	0,51
4	1,65	1	0,49	1,32	0,91
$\Sigma$	5,75	5,98	3,75	3,49	2,48
rata-rata	1,44	1,50	0,94	0,87	0,62

## Lampiran 7. Oneway anova, uji kontras ortogonal, dan uji polynomial

## A. Konsumsi Ransum, PBB, dan Konversi Ransum

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
konsumsi	Between Groups	179984,0	4	44996,005	1,374	,290
	Within Groups	491076,2	15	32738,411		
	Total	671060,2	19			
Pbb	Between Groups	183224,1	4	45806,032	9,392	,001
	Within Groups	73157,080	15	4877,139		
	Total	256381,2	19			
konversi_ransum	Between Groups	,229	4	,057	9,519	,000
	Within Groups	,090	15	,006		
	Total	,319	19			

## Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	-3	0	1	1	1
2	0	-3	1	1	1

## Contrast Tests

		Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
konsumsi	Assume equal variances	1	163,1050	313,39310	,520	15	,610
		2	-383,0825	313,39310	-1,222	15	,240
	Does not assume equal variances	1	163,1050	212,05809	,769	6,105	,471
		2	-383,0825	354,32901	-1,081	4,645	,333
Pbb	Assume equal variances	1	677,0000	120,96039	5,597	15	,000
		2	374,9000	120,96039	3,099	15	,007
	Does not assume equal variances	1	677,0000	78,27516	8,649	9,842	,000
		2	374,9000	126,88503	2,955	5,550	,028
konversi_ransum	Assume equal variances	1	-,5450	,13426	-4,059	15	,001
		2	-,5375	,13426	-4,004	15	,001
	Does not assume equal variances	1	-,5450	,09039	-6,029	7,339	,000
		2	-,5375	,10560	-5,090	8,522	,001

Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan		
	P2	P3	P4
1	-1	0	1
2	1	-2	1

Contrast Tests

	Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)	
konsumsi	Assume equal variance:	1	218,6675	37,24828	-1,593	9	,148
		2	131,8525	37,72099	,555	9	,593
	Does not assume equal variances	1	218,6675	65,85779	-1,319	3,180	,274
		2	131,8525	74,63139	,755	3,860	,494
Pbb	Assume equal variance:	1	75,0000	55,76542	1,345	9	,211
		2	-79,0000	96,57122	-,818	9	,434
	Does not assume equal variances	1	75,0000	47,21229	1,589	4,416	,181
		2	-79,0000	09,38464	-,722	4,375	,507
konversi_ransum	Assume equal variance:	1	-,1750	,06780	-2,581	9	,030
		2	,1300	,11744	1,107	9	,297
	Does not assume equal variances	1	-,1750	,07220	-2,424	3,570	,080
		2	,1300	,10930	1,189	6,280	,277

## B. PERSENTASE KARKAS

### ANOVA

karkas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23,144	4	5,786	4,594	,013
Within Groups	18,892	15	1,259		
Total	42,036	19			

### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	-3	0	1	1	1
2	0	-3	1	1	1

### Contrast Tests

		Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
karkas	Assume equal variances	1	7,1650	1,94379	3,686	15	,002
		2	4,0075	1,94379	2,062	15	,057
	Does not assume equal variances	1	7,1650	2,49074	2,877	3,533	,052
		2	4,0075	2,11891	1,891	3,767	,136

### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan		
	P2	P3	P4
1	-1	0	1
2	1	-2	1

### Contrast Tests

		Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
karkas	Assume equal variances	1	1,4625	,57529	2,542	9	,032
		2	,1075	,99643	,108	9	,916
	Does not assume equal variances	1	1,4625	,45133	3,240	5,806	,019
		2	,1075	1,17246	,092	4,071	,931

### C. LEMAK ABDOMINAL

#### ANOVA

lemak abdominal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,443	4	,611	1,792	,183
Within Groups	5,111	15	,341		
Total	7,554	19			

#### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	-3	0	1	1	1
2	0	-3	1	1	1

#### Contrast Tests

	Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
lemak_abdominal	Assume equal variance 1	-1,3350	1,01103	-1,320	15	,206
	2	-,0300	1,01103	-,030	15	,977
	Does not assume equal variances 1	-1,3350	1,01991	-1,309	5,270	,245
	2	-,0300	,92549	-,032	5,961	,975

#### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan		
	P2	P3	P4
1	-1	0	1
2	1	-2	1

#### Contrast Tests

	Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
lemak_abdomina	Assume equal variance 1	-,3350	,42944	-,780	9	,455
	2	-1,5450	,74382	-2,077	9	,068
	Does not assume equal variances 1	-,3350	,46100	-,727	4,697	,502
	2	-1,5450	,68481	-2,256	6,974	,059

## D. KOLESTEROL DARAH, HDL, DAN LDL

### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kolestero_darah	Between Groups	1096,700	4	274,175	1,876	,167
	Within Groups	2192,500	15	146,167		
	Total	3289,200	19			
HDL	Between Groups	328,500	4	82,125	1,183	,358
	Within Groups	1041,250	15	69,417		
	Total	1369,750	19			
LDL	Between Groups	2087,300	4	521,825	4,174	,018
	Within Groups	1875,250	15	125,017		
	Total	3962,550	19			

### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	-3	0	1	1	1
2	0	-3	1	1	1

### Contrast Tests

		Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
kolestero_darah	Assume equal variances	1	-53,7500	20,94038	-2,587	15	,021
		2	-15,5000	20,94038	-,740	15	,471
	Does not assume equal variances	1	-53,7500	15,23086	-3,529	7,574	,008
		2	-15,5000	26,98688	-,574	3,988	,597
HDL	Assume equal variances	1	26,0000	14,43087	1,802	15	,092
		2	2,7500	14,43087	,191	15	,851
	Does not assume equal variances	1	26,0000	16,36179	1,589	4,090	,186
		2	2,7500	15,33854	,179	4,278	,886
LDL	Assume equal variances	1	-78,7500	19,38621	-4,086	15	,001
		2	-13,5000	19,38621	-,897	15	,496
	Does not assume equal variances	1	-78,7500	27,52612	-2,861	3,570	,052
		2	-13,5000	14,13772	-,955	8,048	,378



Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan		
	P2	P3	P4
1	-1	0	1
2	1	-2	1

Contrast Tests

	Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)	
kolestero_darat	Assume equal variance	1	-6,0000	8,07173	-,743	9	,476
		2	-9,5000	13,98064	-,680	9	,514
	Does not assume equal variances	1	-6,0000	7,72442	-,777	5,791	,468
		2	-9,5000	14,55736	-,653	5,384	,541
HDL	Assume equal variance	1	-5,0000	5,14512	-,972	9	,357
		2	-8,5000	8,91160	-,954	9	,365
	Does not assume equal variances	1	-5,0000	4,79149	-1,044	5,123	,343
		2	-8,5000	9,48464	-,896	5,060	,411
LDL	Assume equal variance	1	-1,2500	6,53835	-,191	9	,853
		2	2,2500	11,32475	,199	9	,847
	Does not assume equal variances	1	-1,2500	6,54949	-,191	5,840	,855
		2	2,2500	11,30542	,199	6,009	,849

## E. Kolesterol Ekskreta

### ANOVA

kolesterol\_ekskreta

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	667,741	4	166,935	2,613	,077
Within Groups	958,446	15	63,896		
Total	1626,187	19			

### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	-3	0	1	1	1
2	0	-3	1	1	1

### Contrast Tests

		Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
kolesterol_ekskreta	Assume equal variances	1	38,9025	13,84519	2,810	15	,013
		2	30,9075	13,84519	2,232	15	,041
	Does not assume equal variances	1	38,9025	15,91729	2,444	4,264	,067
		2	30,9075	12,91256	2,394	5,160	,061

### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan		
	P2	P3	P4
1	-1	0	1
2	1	-2	1

### Contrast Tests

		Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
kolesterol_ekskreta	Assume equal variances	1	,1550	5,33399	,029	9	,977
		2	2,3550	9,23874	,255	9	,805
	Does not assume equal variances	1	,1550	4,24851	,036	5,912	,972
		2	2,3550	10,78625	,218	4,130	,838

## F. Kolesterol Daging

### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kolesterol_dada	Between Groups	3,931	4	,983	3,017	,052
	Within Groups	4,886	15	,326		
	Total	8,818	19			
Kolesterol_paha	Between Groups	4,752	4	1,188	4,124	,019
	Within Groups	4,321	15	,288		
	Total	9,073	19			

### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	-3	0	1	1	1
2	0	-3	1	1	1

### Contrast Tests

		Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
kolesterol_dada	Assume equal variances	1	-2,5575	,98858	-2,587	15	,021
		2	-2,6475	,98858	-2,678	15	,017
	Does not assume equal variances	1	-2,5575	,89663	-2,852	4,274	,043
		2	-2,6475	1,38389	-1,913	3,466	,139
Kolesterol_paha	Assume equal variances	1	-2,8450	,92963	-3,060	15	,008
		2	-1,9825	,92963	-2,133	15	,050
	Does not assume equal variances	1	-2,8450	1,13753	-2,501	3,660	,072
		2	-1,9825	1,03639	-1,913	3,817	,132

Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan		
	P2	P3	P4
1	-1	0	1
2	1	-2	1

Contrast Tests

		Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
kolesterol_dada	Assume equal variances	1	-.3450	,30011	-1,150	9	,280
		2	-.3450	,51981	-.664	9	,524
	Does not assume equal variances	1	-.3450	,30967	-1,114	5,737	,310
		2	-.3450	,50271	-.686	6,516	,516
kolesterol_paha	Assume equal variances	1	-.7975	,28830	-2,766	9	,022
		2	-.5575	,49935	-1,116	9	,293
	Does not assume equal variances	1	-.7975	,27657	-2,884	5,910	,028
		2	-.5575	,51887	-1,074	5,420	,328

## G. Lemak dada

### ANOVA

Lemak dada

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2,298	4	,575	5,170	,008
Within Groups	1,667	15	,111		
Total	3,966	19			

### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	-3	0	1	1	1
2	0	-3	1	1	1

### Contrast Tests

	Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)	
Lemak_dada	Assume equal variances	1	-1,8823	,57745	-3,260	15	,005
		2	-2,0548	,57745	-3,558	15	,003
	Does not assume equal variances	1	-1,8823	,55646	-3,383	5,129	,019
		2	-2,0548	,62754	-3,274	4,555	,025

### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan		
	P2	P3	P4
1	-1	0	1
2	1	-2	1

### Contrast Tests

	Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)	
Lemak_dada	Assume equal variances	1	-,3175	,22824	-1,391	9	,198
		2	-,1880	,39532	-,476	9	,646
	Does not assume equal variances	1	-,3175	,22134	-1,434	4,409	,218
		2	-,1880	,40692	-,462	5,402	,662

## H. Lemak Paha

### ANOVA

lemak\_paha

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3,641	4	,910	1,341	,300
Within Groups	10,179	15	,679		
Total	13,821	19			

### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
1	-3	0	1	1	1
2	0	-3	1	1	1

### Contrast Tests

	Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
lemak_paha Assume equal variances	1	-2,3050	1,42683	-1,615	15	,127
	2	-1,9975	1,42683	-1,400	15	,182
Does not assume equal variances	1	-2,3050	1,63185	-1,413	4,359	,225
	2	-1,9975	1,22679	-1,628	5,657	,158

### Contrast Coefficients

Contrast	perlakuan		
	P2	P3	P4
1	-1	0	1
2	1	-2	1

### Contrast Tests

	Contrast	Value of Contrast	Std. Error	t	df	Sig. (2-tailed)
lemak_paha Assume equal variances	1	-,7425	,57458	-1,292	9	,228
	2	-,2725	,99520	-,274	9	,790
Does not assume equal variances	1	-,7425	,68138	-1,090	3,583	,344
	2	-,2725	,76684	-,355	5,298	,736