

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PROBIOTIK YANG  
BERASAL DARI USUS ITIK PEDAGING *Anas domesticus***

**ANASTIAWAN**

**H411 10 259**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2014**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PROBIOTIK YANG  
BERASAL DARI USUS ITIK PEDAGING *Anas domesticus***

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Biologi  
pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin*

**ANASTIAWAN**

**H411 10 259**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2014**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PROBIOTIK YANG  
BERASAL DARI USUS ITIK PEDAGING *Anas domesticus***

**Disusun dan diajukan oleh**

**ANASTIAWAN**

**H411 10 259**

**Disetujui oleh :**

**Pembimbing Utama**

**Dra. Hj. Risco G. Budji, M.S.**  
**NIP. 195002161979032001**

**Pembimbing Pertama**

**Pembimbing Kedua**

**Dr. Sartini, M. Si., Apt.**  
**NIP. 19611111 1987032001**

**Dr. Zaraswati Dwyana, M. Si.**  
**NIP. 196512091990082001**

**Makassar, Januari 2014**

## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

*Alhamdulillah rabbil'alamin* segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. Karena hanya dengan hidayah dan berkah-Nya yang selalu diberikan kepada hambanya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal dari Saluran Pencernaan Itik Pedaging *Anas domesticus*” dapat selesai dengan baik. Skripsi ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar. Tak lupa pula kami kirimkan shalawat dan salam kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW., keluarga, dan para sahabatnya yang telah membimbing kita ke jalan kebenaran sehingga kita bisa tetap berada di jalan-Nya.

Atas bantuan, doa dan semangat dari berbagai pihak sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Secara khusus dan istimewa skripsi ini didedikasikan sebagai wujud rasa terima kasih penulis yang tak terhingga kepada kedua orang tua penulis yakni, H. M. Alwi dan Hj. Nursiah yang telah merawat, membesarkan, mendukung dan memotivasi diri penulis untuk menuntut ilmu dan doa dari mereka yang tak henti-hentinya diberikan untuk penulis.

Kepada Dra. Hj. Risco G. Budji, MS. selaku Pembimbing Utama, Dr. Sartini, M. Si., Apt. selaku Pembimbing Pertama, dan Dr. Zaraswati Dwyana, M. Si. selaku Pembimbing Kedua, penulis menghaturkan banyak ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya atas segala bantuan yang beliau-beliau berikan baik berupa kritik, saran, maupun motivasi yang membantu penulis selama proses

penulisan skripsi ini sampai selesai. Tanpa beliau-beliau penulis tidak akan dapat menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih sekali lagi.

Penulis juga mengucapkan terima kasih serta penghargaan yang tulus, kepada :

- Bapak Prof. Dr. H. Hanapi Usman, MS. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, beserta staf pegawainya.
- Bapak Dr. Eddy Soekendarsi, M.Sc. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
- Bapak/Ibu Dosen dan pegawai Jurusan Biologi yang senantiasa membantu penulis sehingga dapat mencapai gelar sarjana.
- Bapak Drs. Asadi Abdullah, M. Si. Selaku Penasehat Akademik (PA), yang senantiasa memberikan arahan kepada penulis sedari penulis memulai studinya sampai selesai.
- Kepada seluruh Tim Penguji, yang senantiasa meluangkan waktunya untuk memberikan waktunya untuk memberikan kritik dan saran yang tentunya sangat bermanfaat bagi penulis.
- Kepada saudara dan saudariku tercinta Biologi Unhas Angkatan 2010, terima kasih banyak telah menemani penulis dari Maba sampai Sarjana.
- Terima kasih pula kepada rekan penelitianku Aulia Insani yang telah rela berbagi suka dan duka serta pertolongan yang diberikan selama ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penulisan mendatang. Penulis berharap semoga

sksripsi ini dapat berguna bagi kita semua, bagi perkembangan dunia sains dan teknologi. Sekali lagi terima kasih.

Makassar, Desember 2013

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal dari Usus Itik Pedaging *Anas domesticus*”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter bakteri probiotik yang diisolasi dari usus itik pedaging *Anas domesticus*. Isolasi bakteri probiotik dilakukan dengan menggunakan medium MRSA (*Man Rogosa Sharpe Agar*) yang ditambahkan  $\text{CaCO}_3$  1%. Kemampuan sebagai bakteri probiotik diperoleh dengan melakukan uji ketahanan terhadap pH rendah dan garam empedu. Karakteristik bakteri dilakukan melalui uji makroskopik dengan mengamati bentuk koloni, uji mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan Gram, uji fisiologis meliputi uji ketahanan terhadap temperatur dan uji-uji biokimia seperti uji motilitas, uji MR-VP, uji katalase dan uji TSIA, serta uji daya hambat terhadap bakteri patogen dengan menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil yang diperoleh terdapat delapan isolat bakteri probiotik, 6 isolat bersifat gram positif dan 2 isolat bersifat gram negatif, berbentuk batang dan bulat, mampu tumbuh pada medium yang memiliki pH 2,5-3 dan medium yang mengandung garam empedu sintetik 1% dan 5%, temperatur pertumbuhan  $15^\circ\text{C}$  dan  $45^\circ\text{C}$ , serta optimum pada temperatur  $37^\circ\text{C}$ . kedelapan isolat bersifat non motil, positif terhadap uji MR, positif dan negatif terhadap uji VP, bersifat katalase negatif, dan mampu memfermentasi karbohidrat pada medium TSIA. Dari hasil uji daya hambat didapatkan bahwa semua isolat memiliki kemampuan menghasilkan antimikroba yang bersifat bakteriosida terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S. aureus*.

Kata Kunci : Probiotik, itik pedaging *Anas domesticus*, usus itik pedaging

## ABSTRACT

The research about “The Isolation and Characterization of Probiotic Bacteria which Is Taken From Intestines of the broiler duck *Anas domesticus*” has been done. This research aimed to is get the characters of those bacteria. Probiotic bacteria was isolated by using a medium MRSA (*Man Rogosa Sharpe Agar*) which is added with  $\text{CaCO}_3$  1%. To get the ability as probiotic bacteria by using a few test such as the ability in low pH and mineral compound of bile. The characteristic of bacteria can be observe by macroscopic test for the colony form, the microscopoc test by using the Gram staining, the physiological test was using temperature ability, biochemical tests for motility test, MR-VP test, catalase test, and TSIA test. The test of inhibitory growth of pathogen bacterial was used *Escherchia coli* and *Staphylococcus aureus*. The result shows that eight isolates of probiotic bacteria are 6 isolates Gram positive and 2 isolates Gram negative, rod and round shape. They were able to grow on a medium which has a pH between 2,5 and 3 and a medium of 1% and 5% synthetic mineral compound of bile, growth temperature  $15^{\circ}\text{C}$  and  $45^{\circ}\text{C}$  (optimum at  $37^{\circ}\text{C}$ ). The eight isolates are non motil, positive at MR test, positive and negative at VP test, catalase negative and be able to fermented carbohydrates in the TSIA medium. From the result of the inhibitory power test show that all isolates have the ability to produce antimicrobial that are bacteriosida against bacterial growth of *E.coli* and *S. aureus*.

Keywords : Probiotic, broiler duck *Anas domesticus*, intestines of broiler duck.



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
Halaman Judul.....	i
Lembar pengesahan.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak.....	vii
Abstract.....	viii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Tujuan Penelitian.....	3
I.3 Manfaat Penelitian.....	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
II.1 Bakteri Probiotik.....	4
II.2 Manfaat Bakteri Probiotik.....	6
II.3 Jenis-jenis Bakteri Probiotik.....	8
II.4 Kriteria Bakteri Probiotik.....	9
II.5 Mekanisme Kerja Probiotik.....	11
II.6 Studi Keamanan Probiotik.....	11

II.7 Sumber Isolat.....	14
II.8 Manfaat Probiotik pada Ternak.....	15
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>17</b>
III.1 Alat.....	17
III.2 Bahan.....	17
III.3 Prosedur Kerja.....	17
III.3.1 Sterilisasi Alat dan Medium.....	17
III.3.2 Pengambilan Sampel.....	18
III.3.3 Pembuatan Medium.....	18
III.3.4 Isolasi Bakteri Probiotik.....	20
III.3.5 Tahap Pemurnian Kultur Bakteri.....	20
III.3.6 Pengamatan Morfologi.....	21
III.3.7 Pembuatan Stok Bakteri.....	21
III.3.8 Uji Probiotik.....	22
III.3.9 Uji Fisiologis Probiotik.....	22
III.3.10 Uji Biokimia.....	23
III.3.11 Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri Patogen.....	24
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>26</b>
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>47</b>
V.1 Kesimpulan.....	47
V.2 Saran.....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>48</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Morfologi Koloni Isolat Bakteri Probiotik yang Diperoleh .....	27
2. Hasil Pengecatan Gram dan Karakteristik Isolat Berdasarkan Pertumbuhan Isolat pada Kondisi pH, Garam Empedu, dan Suhu yang Berbeda .....	29
3. Hasil Uji TSIA, MR-VP, Motilitas, dan Katalase .....	39
4. Identifikasi Hasil Fermentasi Bakteri pada Medium TSIA .....	42
5. Hasil Pengukuran Zona Bening pada Uji Daya Hambat .....	44
6. Hasil Karakterisasi Bakteri Probiotik BAL.....	70

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Isolat Bakteri A-H Hasil Isolasi Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Itik Pedaging .....	26
2. Hasil Pengamatan Pengecatan Gram dengan Perbesaran 100x10..	28
3. Hasil Pengamatan Uji Terhadap Keasaman (pH).....	31
(1) MRSB degan pH 2,5.....	31
(2) MRSB dengan pH 3.....	31
4. Hasil Pengamatan Uji Terhadap Garam Empedu.....	33
(1) MRSB + Garam Empedu Sintetik 1%.....	33
(2) MRSB + Garam Empedu Sintetik 5%.....	33
5. Hasil Uji Temperatur/Suhu .....	35
(a) Inkubasi Pada Suhu 37 <sup>o</sup> C .....	35
(b) Inkubasi Pada Suhu 45 <sup>o</sup> C.....	35
(c) Inkubasi Pada Suhu 15 <sup>o</sup> C.....	35
6. Hasil Uji MR ( <i>Methyl Red</i> ) .....	37
7. Hasil Uji VP ( <i>Voges Preskauer</i> ) .....	38
8. Hasil Uji Motilitas .....	40
9. Hasil Uji Katalase .....	41
10. Hasil Uji TSIA ( <i>Triple Sugar Iron Agar</i> ) .....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal dari Saluran Pencernaan Itik Pedaging <i>Anas domesticus</i> .....	54
2. Skema Kerja Isolasi Bakteri Probiotik .....	55
3. Skema Kerja Pengecatan Gram .....	56
4. Skema Kerja Uji Motilitas .....	57
5. Skema Kerja Uji Ketahanan terhadap Keasaman (pH) .....	58
6. Skema Kerja Uji Ketahanan terhadap Garam Empedu .....	59
7. Skema Kerja Uji Ketahanan Temperatur .....	60
8. Skema Kerja Uji MR ( <i>Methyl Red</i> ) .....	61
9. Skema Kerja Uji VP ( <i>Voges Preskauer</i> ) .....	62
10. Skema Kerja Uji Katalase .....	63
11. Skema kerja uji TSIA ( <i>Triple Sugar Iron Agar</i> ) .....	64
12. Skema Kerja Uji Daya Hambat .....	65
13. Uji Daya Hambat .....	66
14. Pemurnian Isolat BAL dengan Metode Kuadran .....	67
15. Foto Prosedur Kerja .....	68
16. Hasil Karakterisasi Bakteri Probiotik.....	70

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk, maka kebutuhan daging di Indonesia tiap tahun mengalami peningkatan. Kebutuhan konsumsi daging di Indonesia pada tahun 2000 berkisar 1,6 juta ton. Peningkatan kebutuhan daging ini merangsang para ahli di bidang peternakan untuk berusaha meningkatkan produktivitas ternak. Salah satu cara untuk meningkatkan produktivitas ternak yang sekarang sedang berkembang yaitu dengan memperbaiki pakan ternak menggunakan mikroorganisme seperti probiotik (Gunawan dan Sundari, 2003).

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang bila dikonsumsi dapat meningkatkan kesehatan manusia ataupun ternak dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. Probiotik mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar kolesterol serum darah (Kusumawati *et al.*, 2003). Salah satu kelompok bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) sering digunakan sebagai kultur probiotik dalam produk-produk fermentasi susu atau produk olahannya, fermentasi daging dan fermentasi buah atau sayuran

Salah satu jenis ternak yang diduga memiliki BAL pada ususnya adalah itik *Anas domesticus* sehingga tingkat kesehatan itik tergolong baik. Itik *Anas domesticus* mampu mempertahankan produksi telur lebih lama dibandingkan ayam, tingkat kematiannya kecil, tahan terhadap penyakit, dan pada penggunaan kualitas pakan yang rendah itik masih dapat berproduksi. Komoditas unggulan dari itik adalah daging dan telur. Konsumsi per kapita telur itik pada tahun 2005

sebesar 0,73 kg/tahun, sedangkan konsumsi per kapita daging itik hanya 0,05 kg/tahun (Ditjennak, 2006).

Namun bagi beberapa orang, itik relatif mahal dan berukuran kecil bila dibandingkan dengan ayam. Kandungan kolesterol itik juga tinggi, maka dari itu orang cenderung lebih memilih daging ayam. Sebenarnya itik memiliki keunggulan tersendiri yaitu kandungan vitamin lebih banyak dibandingkan daging ayam. Untuk memperbaiki gizi dan kualitas itik, maka salah satu cara yang dapat ditempuh adalah dengan menggunakan probiotik seperti BAL (Sari, 2012), karena BAL dapat meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan ternak dengan menyerap lebih banyak nutrisi pakan tanpa terbuang percuma melalui tinja. BAL juga menyeimbangkan populasi mikrobial pada saluran pencernaan ternak, mengendalikan mikroorganisme patogen pada tubuh inang dan lingkungan dan menstimulasi imunitas inang (Surono, 2004). Probiotik seperti BAL juga mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar kolesterol serum darah ternak disebabkan karena kemampuannya menghasilkan enzim *bile salt hydrolase* (BSH) (Kusumawati *et al.*, 2003).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram-positif yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat (Nettles dan Barefoot, 1993). Bakteri asam laktat (BAL) hidup di saluran pencernaan ternak. Keberadaan bakteri probiotik tersebut masih sangat kurang khususnya di usus halus, sehingga penyerapan sari makanan menjadi kurang maksimal. Jadi untuk menambahkan jumlah bakteri probiotik seperti BAL pada usus biasanya bakteri probiotik tersebut diisolasi dari usus ternak itu sendiri agar didapatkan bakteri probiotik yang benar-benar cocok dan sesuai dengan sistem pencernaan ternak tersebut

namun tidak semua jenis bakteri usus merupakan bakteri probiotik BAL (Sari, 2012).

Berdasarkan uraian tersebut di atas maka telah dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik yang berasal dari saluran pencernaan itik pedaging *Anas domesticus* yang bisa membantu meningkatkan produktivitas itik pedaging.

## **I.2 Tujuan penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakter bakteri probiotik yang diisolasi dari usus itik pedaging *Anas domesticus*.

## **I.3 Manfaat Penelitian**

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terhadap penelitian-penelitian selanjutnya tentang pemanfaatan bakteri probiotik dari usus itik pedaging *Anas domesticus* pada industri peternakan itik.

## **I.4 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus - Oktober 2013 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Pengambilan sampel pada peternakan itik lokal di Lembang Loe Kecamatan Binamu Kabupaten Jeneponto.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Bakteri Probiotik**

Konsep tentang probiotik berawal dari penemuan Parker (1974) yang selanjutnya mendefinisikan probiotik sebagai organisme dan senyawa yang dapat menyeimbangkan mikroflora saluran pencernaan. Akan tetapi definisi ini dipandang terlalu luas oleh Fuller (1986) karena meliputi biakan, sel serta metabolit mikroba sehingga di dalamnya akan termasuk juga preparat antibiotika. Ducluzeau et al. (1991) menyatakan bahwa definisi probiotik ialah mikroorganisme hidup dalam bentuk kering yang mengandung media biakan serta produk hasil metabolisme mikroorganisme tersebut. Probiotik mengandung bakteri gram positif dan gram negatif, yeast serta jamur. Mencermati adanya perbedaan dalam definisi probiotik yang cukup luas maka definisi yang sesuai untuk probiotik sebaiknya diarahkan pada tujuan serta manfaatnya yaitu untuk upaya manipulasi mikroflora saluran pencernaan untuk tujuan peningkatan kondisi kesehatan serta produktivitas penerima probiotik.

Lilly dan Stillwell memperkenalkan istilah "probiotik" pada tahun 1965 untuk nama bahan yang dihasilkan oleh mikroba yang mendorong pertumbuhan mikroba lain (FAO/WHO, 2001). Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan kesehatan hostnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup (FAO/WHO, 2001; FAO/WHO, 2002; ISAPP, 2009) dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk dalam saluran pencernaan (Shitandi *et al.*, 2007; Dommels *et al.*, 2009; Weichselbaum, 2009).

Probiotik didefinisikan sebagai kultur hidup satu macam mikroba atau lebih yang diberikan pada manusia atau hewan untuk mikroflora pencernaan (Havenaaret *al.*, 1992 dalam Sari, 2012). Jenis mikroba tersebut harus sudah dinyatakan sebagai yang aman digunakan sebagai bahan pakan atau pangan. Penggunaan probiotik pada ternak telah dilaporkan berfungsi sebagai: (i) zat pemacu tumbuh, (ii) meningkatkan konversi pakan, (iii) kontrol kesehatan atau pencegahan mikroba patogen terutama untuk ternak usia muda, dan (iv) pengurai faktor antinutrisi seperti antitripsin (Havenaaret *al.*, 1992 dalam Sari, 2012).

Bakteri probiotik atau bakteri baik adalah bakteri asam laktat yang hidup di dalam usus, bersimbiosis dengan mikroflora usus yang mampu melawan bakteri patogen di dalam usus, oleh karena itu pemberian probiotik dapat berpengaruh menguntungkan bagi kesehatan. Sebagian besar jenis bakteri pada probiotik berasal dari *Lactobacillus* atau *Bifidobacterium*. Dua golongan bakteri ini mampu memperpanjang masa simpan produk dan secara alami melindungi usus manusia (Saxelin, 1997). Bakteri ini sering dimanfaatkan untuk industri makanan seperti yoghurt, keju, sauerkraut, acar, bir, anggur (minuman), cuka, kimchi, coklat dan makanan fermentasi lainnya (Khedid *et al.*, 2006).

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup non-patogenik, yang jika dikonsumsi dalam jumlah tertentu akan memberikan efek menguntungkan bagi inang (*host*) (FAO/WHO, 2001). Probiotik merupakan bakteri-bakteri yang secara tradisional telah lama digunakan dalam bentuk makanan, mengandung baik bakteri hidup, bakteri mati maupun metabolitnya yang dalam kurun waktu lama terbukti aman.

Karakterisasi bakteri asam laktat yang dapat digolongkan ke dalam bakteri probiotik adalah diketahui sebagai materi yang tidak berbahaya, dapat hidup selama dilakukan proses dan penyimpanan, memiliki efek antagonis terhadap bakteri patogen, toleran terhadap asam lambung, getah pankreas dan cairan empedu serta mampu melindungi epitelium inangnya (Mac Farland dan Cummings 2002; Begley *et al.*, 2005, dalam Vélez, 2007).

Menurut *Food and Agriculture Organization/World Health Organization* (FAO/WHO) (2001), idealnya strain probiotik seharusnya tidak hanya mampu bertahan melewati saluran pencernaan tetapi juga memiliki kemampuan untuk berkembang biak dalam saluran pencernaan, tahan terhadap cairan lambung dan cairan empedu dalam jalur makanan yang memungkinkan untuk bertahan hidup melintasi saluran pencernaan dan terkena paparan empedu. Selain itu probiotik juga harus mampu menempel pada sel epitel usus, mampu membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan, mampu menghasilkan zat anti mikroba (bakteriosin), dan memberikan pengaruh yang menguntungkan inangnya. Syarat lainnya adalah tidak bersifat patogen dan aman jika dikonsumsi. Strain probiotik juga harus tahan dan tetap hidup selama proses pengolahan makanan dan penyimpanan, mudah diaplikasikan pada produk makanan, dan tahan terhadap proses psikokimia pada makanan (Prado *et al.*, 2008).

## **II.2 Manfaat Bakteri Probiotik**

Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan kesehatan hostnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup (FAO/WHO, 2001; FAO/WHO, 2002; ISAPP, 2009) dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk dalam saluran pencernaan (Shitandi *et al.*, 2007; Dommels *et al.*, 2009; Weichselbaum, 2009).

Probiotik umumnya dari golongan bakteri asam laktat (BAL), khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* yang merupakan bagian dari flora normal pada saluran pencernaan (Sujaya *et al.* 2008). *Lactobacillus* merupakan probiotik yang dapat memberikan efek yang menguntungkan seperti menstimulasi sistem kekebalan (*immune*) tubuh (Isolauri *et al.*, 2001) dan menurunkan kadar kolesterol (Pereira *et al.*, 2003; Yulinery *et al.*, 2006; Belviso *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2010).

Probiotik dapat memproduksi bakteriosin untuk melawan patogen yang bersifat selektif hanya terhadap beberapa strain patogen. Probiotik juga memproduksi asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan beberapa antimikrobia lainnya. Probiotik juga menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme *host*, seperti vitamin B (Asam Pantotenat), pyridoksin, niasin, asam folat, kobalamin, dan biotin serta antioksidan penting seperti vitamin K (Adams, 2009).

Manfaat probiotik bagi inangnya dapat melalui mekanisme fungsi yaitu fungsi protektif, yaitu kemampuannya untuk menghambat patogen dalam saluran pencernaan. Terbentuknya kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan, mengakibatkan kompetisi nutrisi dan lokasi adhesi (penempelan) antara probiotik dan bakteri lain, khususnya patogen. Pertumbuhan probiotik juga akan menghasilkan berbagai komponen anti bakteri (asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan patogen) (Collado *et al.*, 2009). Probiotik memberikan efek fisiologis seperti antikolesterol, antihipertensi, intoleran laktosa, anti karsinogenik, gangguan saluran pencernaan serta alergi. Dengan memperhatikan kesehatan inangnya penambahan probiotik harus

memperhatikan konsentrasi antara  $10^7 - 10^{11}$  CFU/g per hari untuk manusia dan  $10^7-10^9$ /g per hari untuk binatang, sehingga dapat berperan untuk menurunkan kadar kolesterol (Ooi dan Min-Tze, 2010).

Sejumlah peneliti juga mengungkapkan beberapa pengaruh positif probiotik yaitu sebagai berikut (Tensiska, 2008) :

- 1) Meningkatkan ketahanan terhadap penyakit infeksi terutama infeksi usus dan diare;
- 2) Menurunkan tekanan darah/ antihipertensi;
- 3) Menurunkan konsentrasi kolesterol serum darah;
- 4) Mengurangi reaksi *lactose intolerance*;
- 5) Mempengaruhi respon imun;
- 6) Menurunkan resiko terjadinya tumor dan kanker kolon, dan
- 7) Bersifat antimutagenik serta bersifat antikarsinogenik

### **II.3 Jenis-jenis Bakteri Probiotik**

Menurut Leeson dan Summers (1996) probiotik diklasifikasikan dalam dua tipe, yaitu kultur mikrobial hidup, sebagai contoh adalah probiotik “starbio” yang berasal dari lambung sapi dan produk mikrobial fermentasi, contohnya adalah kultur yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), *Aspergillus niger*, *A. oryzae* dan *Lactobacillus acidophilus*. Salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) sering digunakan sebagai kultur probiotik dalam produk-produk fermentasi susu atau produk olahannya, fermentasi daging dan fermentasi buah atau sayuran.

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram-positif yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Genus bakteri yang tergolong

kepada BAL adalah *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Propionibakterium* (Nettles dan Barefoot, 1993).

Dari sekian banyak mikroorganisme, *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* merupakan mikroflora normal usus yang paling utama, merupakan mikroba yang paling banyak berperan menjaga kesehatan fungsi saluran cerna, sehingga kedua genus ini paling banyak digunakan dalam pengembangan produk probiotik. *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* merupakan probiotik yang tahan terhadap asam lambung, cairan empedu, mampu menempel pada dinding saluran cerna sehingga melindungi mukosa saluran cerna, dan mampu menghasilkan zat yang berpotensi sebagai antimikroba. Kedua mikroba ini sering juga disebut *bakteri asam laktat* (LAB – *lactic acid bacteria*) karena mampu melakukan proses *fermentasi* membentuk asam laktat pada usus besar (Simadibrata, 2010).

#### **II.4 Kriteria Bakteri Probiotik**

Karakterisasi bakteri asam laktat yang dapat digolongkan ke dalam bakteri probiotik adalah diketahui sebagai materi yang tidak berbahaya, dapat hidup selama dilakukan proses dan penyimpanan, memiliki efek antagonis terhadap bakteri patogen, toleran terhadap asam lambung, getah pankreas dan cairan empedu serta mampu melindungi epitelium inangnya (Mac Farland dan Cummings 2002; Begley *et al.*, 2005; Vesterlund *et al.*, 2005, dalam Vélez, 2007).

Ketika bakteri probiotik termakan, maka bakteri pertama kali akan menghadapi keasaman lambung. Bakteri asam laktat tidak hanya tumbuh dengan lambat pada pH rendah, tetapi kerusakan akibat asam dan hilangnya viabilitas juga dapat terjadi pada sel bakteri yang terpapar pada pH rendah. Tiap galur

memiliki ketahanan yang berbeda terhadap asam atau pH rendah. Contohnya pada penelitian yang dilakukan adalah, sebanyak 20 isolat yang berasal dari galur yang berbeda-beda memiliki ketahanan yang berbeda-beda pada pH 2,5 selama 90 menit. Keseluruhan isolat yang diteliti ternyata mampu hidup di pH 2,5 namun isolat yang berasal dari galur feses bayi dan air kelapa penurunan populasinya lebih rendah daripada isolat yang berasal dari keju, tape dan moromi kecap (Surono, 2004).

Bakteri yang mampu bertahan pada kondisi keasaman lambung akan dialirkan menuju ke usus bagian atas dimana pada usus, bakteri akan menghadapi tekanan yang berhubungan dengan ketersediaan O<sub>2</sub> yang rendah, garam empedu dan persaingan dengan mikrobiota (mikroorganisme lainnya yang terdapat di dalam usus). Garam empedu yang terdapat di dalam usus disintesis di dalam hati dengan cara mengkonjugasi steroid heterosiklik yang berasal dari kolesterol dan disalurkan ke usus melalui usus dua belas jari. Garam empedu kemudian akan diserap kembali dari ileum bagian bawah dan kembali ke hati untuk disekresikan lagi ke empedu. Lamanya bakteri di dalam usus sekitar 4-6 jam. Bakteri yang telah melewati garam empedu harus mampu mengkolonisasi pada saluran usus bagian bawah agar dapat dikatakan bakteri probiotik (Surono, 2004).

Seperti halnya ketahanan terhadap asam, semua mikroba yang berhasil hidup setelah ditumbuhkan dalam MRSA yang ditambah 0,3% *ox gall*, dinyatakan bersifat tahan terhadap garam empedu. Konsentrasi garam empedu sebesar 0,3% merupakan konsentrasi yang kritis, nilai yang cukup tinggi untuk melakukan seleksi terhadap isolat yang resisten terhadap garam empedu.

## II.5 Mekanisme Kerja Probiotik

Mekanisme probiotik melindungi atau memperbaiki kondisi inangnya antara lain dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui beberapa cara antara lain dengan (Simadibrata, 2010):

1. Memproduksi substansi-substansi penghambat. Probiotik mampu memproduksi zat-zat penghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif. Zat-zat ini termasuk asam organik, hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), bakteriosin, reuterin yang mampu menghambat tidak hanya bakteri hidup namun juga produksi toksin.
2. Menghambat perlekatan bakteri patogen dengan berkompetisi di tempat perlekatan permukaan mukosa saluran cerna diduga juga merupakan salah satu cara probiotik menghambat invasi dari bakteri patogen.
3. Kompetisi nutrisi. Bakteri-bakteri yang menguntungkan (probiotik) akan berkompetisi dengan bakteri patogen dalam hal memperebutkan nutrisi dalam saluran cerna.

## II.6 Studi Keamanan Probiotik

Aspek keamanan dan fungsional menjadi pertimbangan utama dalam proses seleksi mikroba probiotik. Aspek keamanan seperti : menyehatkan saluran pencernaan), bersifat non patogen, dan tahan terhadap antibiotik. Aspek fungsional seperti kemampuan hidup dan tahan dalam saluran pencernaan, dapat diaplikasikan pada dunia industri, dan tidak menimbulkan aroma yang menyimpang pada makanan (Saarela *et al.*, 2000; Prado *et al.*, 2008).

Bakteri asam laktat termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan



toksik, maka disebut *food grade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe (GRAS)* yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan. BAL bermanfaat untuk peningkatan kualitas *higiene* dan keamanan pangan melalui penghambatan secara alami terhadap flora berbahaya yang bersifat patogen (Kusmiati dan Malik, 2002).

Senyawa yang dihasilkan oleh BAL diantaranya adalah asam organik, suatu peptida yang bersifat antimikroba, berbagai jenis vitamin, asam folat serta senyawa flavor. BAL juga menurunkan pH lingkungannya dan mengeksresikan senyawa yang mampu menghambat mikroorganisme patogen seperti H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diasetil, CO<sub>2</sub>, asetaldehid, d-isomer, asam amino dan bakteriosin (Surono, 2004).

Konsumsi probiotik biasanya diaplikasikan pada pembuatan produk pangan olahan seperti; yogurt, keju, minuman penyegar, es krim, yakult, permen dan yogurt beku (Senok, 2009; Granato *et al.*, 2010). Jumlah minimal strain probiotik yang ada dalam produk makanan adalah sebesar 10<sup>6</sup> CFU/g atau jumlah strain probiotik yang harus dikonsumsi setiap hari sekitar 10<sup>8</sup> CFU/g, dengan tujuan untuk mengimbangi kemungkinan penurunan jumlah bakteri probiotik pada saat berada dalam jalur pencernaan (Shah, 2007).

Keamanan dan kemanjuran probiotik sangat ditentukan oleh karakter dan jumlah bakteri yang digunakan. Oleh karena itu, dalam menilai keamanan dan kemanjuran suatu produk probiotik beberapa faktor harus diperhatikan diantaranya sifat-sifat bakteri yang akan digunakan seperti kemampuan bakteri terus hidup (*viability*) selama proses produksi, ketika bakteri berada dalam produk

(*carrier*), ketika berada dalam saluran pencernaan dan ketika dalam penyimpanan (bakteri mudah mengalami degradasi oleh panas, cahaya, kelembapan, dan oksigen. Oleh karena itu, produk probiotik biasanya harus disimpan di pendingin untuk dijaga agar bakteri tetap hidup dan aktif). Sifat bakteri lainnya yang harus diperhatikan adalah sifat ketahanannya terhadap antibiotik dan tidak memiliki sifat virulen (dapat menyebabkan penyakit) (Tensiska, 2008).

Jumlah bakteri juga sangat penting diperhatikan karena berhubungan dengan kemanjuran produk probiotik bersangkutan dan juga untuk mencegah agar tidak terjadi “over dosis” meskipun belum ada laporan mengenai efek samping negatif probiotik dalam konsentrasi tinggi. Kelebihan probiotik di dalam tubuh biasanya dapat dikeluarkan melalui tinja. Efek samping probiotik, jika terjadi, cenderung ringan dan bersifat digestif (seperti buang angin dan kembung). Efek yang lebih serius bisa saja terjadi. Secara teoritis probiotik dapat menyebabkan infeksi yang membutuhkan perawatan antibiotik, aktivitas metabolik yang tidak sehat, stimulasi sistem kekebalan tubuh berlebihan, dan transfer gen (penyisipan material genetik ke dalam sel) (Tensiska, 2008).

Tak sembarang bakteri bisa digunakan sebagai probiotik. Ada beberapa persyaratan yang harus dipenuhi, diantaranya punya aktivitas antimikroba dan antikarsinogenik, mampu berkoloni dalam saluran pencernaan serta mampu meningkatkan penyerapan usus. Beberapa jenis probiotik yang sering digunakan adalah *Bifidobacterium brevis*, *B. infantis*, *B. longu*, *Lactobacillus acidopholus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, dan *Streptococusthermophilus*. Di pasaran probiotik ini dijual dalam bentuk susu dan *foodsupplement* (Tensiska, 2008).

Kesimpulannya, harus dipastikan bahwa mikroorganisme probiotik tidak meningkatkan daya serap usus yang dapat merangsang alergi pada makanan dan menyebabkan kondisi radang lokal maupun sistemik pada sistem pencernaan. Ini merupakan keterangan penting untuk strain-strain yang diberikan untuk terapi (Tensiska, 2008).

## **II.7 Sumber Isolat**

Usus besar mengandung mikroorganisme, suatu komponen yang kompleks dan mempunyai kegiatan metabolisme yang bermacam-macam. Fungsi utamanya adalah menampung energi dari karbohidrat yang tidak tercerna di bagian usus, hal ini dapat dimungkinkan oleh karena kemampuan fermentasi dan absorpsi mikroorganisme terhadap karbohidrat yang tidak terserap oleh dinding usus, sehingga mikroorganisme berperan dalam fermentasi karbohidrat. Mikroorganisme juga mempunyai peranan dalam sintesis vitamin B dan vitamin K, dan metabolisme asam-asam empedu, sterol dan xenobiotic. Mikroorganisme dalam usus sangat responsif terhadap diet karbohidrat yang dapat difermentasi, misalnya polisakarida *nonstarch*, *resistant starch* dan oligosakarida. Adanya bahan tersebut bakteri akan tumbuh subur dan dapat mensintesis 15 gram biomassa yang disekresikan lewat tinja yang mengandung 1 gram Nitrogen bakterial. Begitupun dengan usus pada ternak, dimana terdapat mikroorganisme yang dapat mempermudah proses penyerapan nutrisi makanan ternak (Tensiska, 2008).

Pada usus besar koloni bakteri sangat tinggi tetapi pada usus halus/kecil jumlah mikroflora hanya sedikit sehingga efek pertahanan terhadap patogenpun

sangat terbatas. Hal tersebut menjadi alasan kenapa sebagian target infeksi virus dan bakteri adalah usus halus (Tensiska, 2008).

## **II.8 Manfaat Probiotik pada Ternak**

Daging itik *Anas domesticus* mengandung lemak yang cukup tinggi yaitu 17% (Samudra dan Arif, 2008) dan kolesterol itik mencapai 50 mg/dl (Setiabudi, 2011). Selain itu, permasalahan yang dihadapi pada usaha produksi daging itik adalah tidak efisiennya dalam memanfaatkan pakan (Sinurat *et al.*, 1993), sehingga biaya produksi menjadi tinggi. Biaya produksi kira-kira 50% lebih tinggi dibanding dengan ayam potong, yang disebabkan rasio konversi pakan yang tidak sebaik seperti pada ayam potong (Yeong, 1994). Untuk mencapai bobot badan antara 1100 – 1200 g diperlukan waktu 10 minggu dengan konversi pakan 4,19 – 6,02 (Sinurat *et al.*, 1993; Iskandar *et al.*, 1995).

Efisiensi penggunaan pakan dapat dilakukan dengan pemberian bahan imbuhan (*feed additive*) atau zat pemacu tumbuh (*growth promotant*). Pencampuran *feed additive* ini dimaksudkan untuk meningkatkan daya simpan ransum dan memacu pertumbuhan ternak. Namun penggunaan *feed additive* secara terus menerus akan mengakibatkan terdapatnya produk metabolit berupa residu antibiotic. Oleh karena itu penggunaan *feed additive* alami merupakan alternative untuk mengurangi akumulasi residu *feed additive* dalam daging. Salah satu *feed additive* alami yang mulai digunakan yakni bakteri probiotik (Tensiska, 2008).

Pemberian probiotik pada ternak unggas biasanya diberikan dalam bentuk campuran ransum atau diberikan melalui air minum, atau dalam bentuk probiotik yang hanya mengandung satu macam strain mikroba saja atau dalam bentuk

campuran terdiri dari beberapa strain mikroba seperti “probiolac” atau “protexin”. Beberapa keuntungan dari penggunaan probiotik pada hewan atau ternak antara lain adalah dapat memacu pertumbuhan, memperbaiki konversi ransum, mengontrol kesehatan antara lain dengan mencegah terjadinya gangguan pencernaan terutama pada hewan-hewan muda (Budiansyah, 2004).

Daging itik juga merupakan salah satu sumber kolesterol yang apabila terus dikonsumsi akan menyebabkan penyumbatan pada pembuluh darah sehingga dapat mengakibatkan stroke dan serangan jantung. Hal ini menyebabkan kurangnya konsumsi itik oleh masyarakat, sehingga penurunan kadar kolesterol pada itik perlu diupayakan (Budiansyah, 2004).

Penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan probiotik untuk penurunan kadar kolesterol adalah pada telur ayam dengan persentase penurunan 5% pemberian  $3,2 \times 10^6$  CFU/g *Bacillus subtilis* (Mahdavi *et al.*, 2005). Yousefi dan Karkoodi (2007) juga sudah telah melakukan penelitian pada ayam broiler, dimana penurunan kadar kolesterol pada kuning telur ayam dengan pemberian probiotik Thepax® yaitu 9% (dengan pemberian 0,05% probiotik) dan pemberian *Saccaromyces* (ragi) yaitu 7,3% (dengan pemberian 0,15% ragi). Penurunan kolesterol pada kuning telur ayam dengan pemberian *Lactococcus plantarum* asal blondo dalam ransum ayam petelur menurunkan kadar kolesterol kuning telur pada pemberian 3 ml ( $3,9 \times 10^8$  CFU/g) probiotik dengan persentase penurunan 53,6% (Purwati, 2011).