

# DAYA HIDUP BAKTERI SELULOLITIK ASAL PROBIOTIK YOGHURT SAPI PADA MEDIA PEMBAWA POLLARD

Listiari Hendraningsih<sup>1</sup>

## ABSTRACT

The research was conducted to evaluate the viability of Ruminant Cellulolytic Bacteria on media pollard in Microbiology Laboratory Medical Faculty, Muhammadiyah University of Malang from April until June 2004. YS was added to pollard as much as 20% from dry matter weight. The media were incubated in 39°C.

The parameter that observed in this research including the total colony of cellulolytic bacteria, the bacteria characteristic and the proportion among the species.

The total colony decreased dramatically from  $10^8$  (0 days) to  $10^2$  (60<sup>th</sup> days), the characterisation process showed there were three species lived in pollard i.e.: *Fibrobacter succinogenes*, *Butyrifibrio fibrisolvens*, and *Ruminococcus albus*. Eventhough all species decreased, there were different pattern of dominancy. On the 0 days, *R. albus* was the predominant bacteria, and *F. succinogenes* dominant in 30<sup>th</sup> day, while on the 60<sup>th</sup> day *B. fibrisolvens* was dominant.

## 1. PENDAHULUAN

Probiotik merupakan suatu produk yang mengandung mikroorganisme dan substansi yang berperan pada keseimbangan mikroba pada saluran pencernaan penjelasan ini kemudian disempurnakan oleh Fuller (1992), sebagai pakan tambahan yang berupa mikroba hidup yang menguntungkan ternak inang karena dapat memperbaiki keseimbangan mikroba pada saluran pencernaannya.

Penggunaan probiotik sebagai pakan tambahan bagi ternak dalam usaha untuk meningkatkan performans cenderung meningkat, terutama setelah timbul kekhawatiran akan efek residu hormon dan antibiotik yang sebelumnya lebih umum digunakan.

Mikroba yang dapat digunakan untuk probiotik harus memenuhi beberapa persyaratan, dan yang utama adalah aman untuk dikonsumsi dan tidak bersifat patogen. Disamping itu mikroba tersebut harus mampu bertahan hidup sampai pada saluran pencernaan. Faktor lain yang harus dipertimbangkan adalah stabilitasnya selama prosesing dan penyimpanan.

Kultur bakteri selulolitik yang terdapat dalam probiotik 'yoghurt sapi' menunjukkan pengaruh yang

nyata dalam peningkatan pencernaan serat kasar dan energi pakan pada domba ekor gemuk (DEG) (Hendraningsih, 2004). Untuk meningkatkan stabilitas selama penyimpanan, probiotik dapat dicampur dalam media kering.

Probiotik bagi ternak ruminansia ditujukan terutama untuk meningkatkan pencernaan serat kasar asal pakan terutama selulosa. Bakteri pencernaan serat, selulolitik yang terdapat pada Yoghurt Sapi yang sebelumnya telah diisolasi dari cairan rumen dan mengalami peningkatan kemampuan telah terbukti meningkatkan pencernaan serat kasar pakan pada domba ekor gemuk (Hendraningsih, 2004). Bakteri selulolitik yang hidup dalam media cair Yoghurt Sapi juga menunjukkan aktivitas yang tinggi yang antara lain ditandai dengan diproduksinya gas selama penyimpanan. Untuk memudahkan peternak dalam penanganan probiotik Yoghurt Sapi, bakteri ditumbuhkan dalam media kering sebagai bahan pembawa Pollard digunakan sebagai bahan pembawa, karena merupakan salah satu konsentrat yang telah umum digunakan oleh peternak dan relatif mudah didapat.

<sup>1</sup> Listiari Hendraningsih. Jurusan TIP. Fakultas Peternakan dan Perikanan. Universitas Muhammadiyah Malang  
Alamat Korespondensi : Perum Pondok Bestari Indah Blok C2/264 Landungsari Dau Malang  
Telepon. 0341-466630 Hp. 0811360937.  
Email. listiari@umm.ac.id

Dalam media kering, bakteri selulolitik diharapkan dapat tetap hidup dan tidak terkontaminasi, dan akan kembali tumbuh dengan cepat dalam media ideal setelah dikonsumsi ternak yaitu rumen. Kandungan air yang terbatas ( $\pm 20\%$ ) diharapkan dapat menjadi faktor pembatas bagi pertumbuhan bakteri selulolitik Yoghurt Sapi.

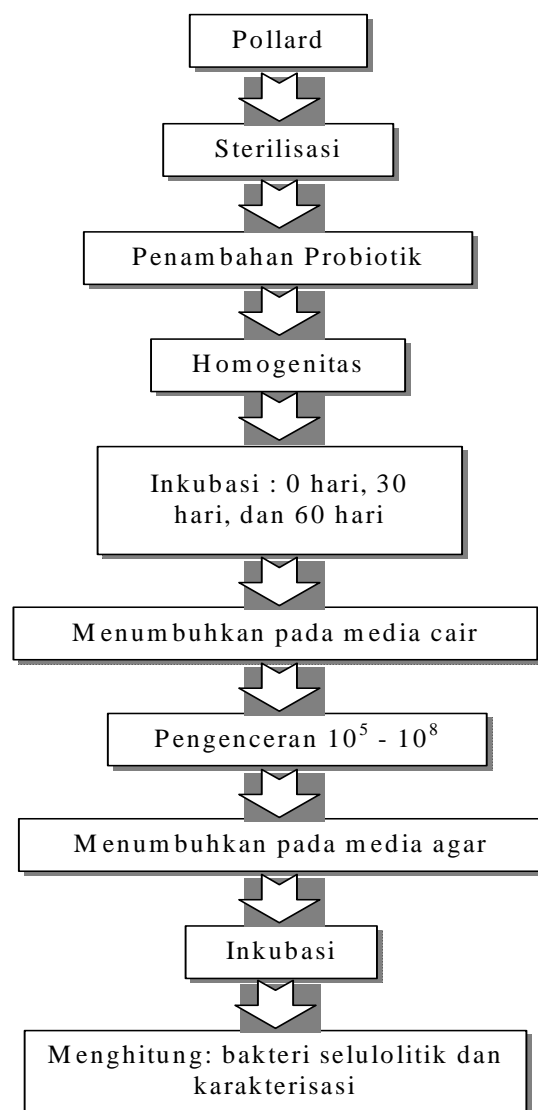
Kultur bakteri selulolitik dalam media cair 'yoghurt sapi' menunjukkan pengaruh yang nyata dalam peningkatan pencernaan nutrisi pada ternak domba. Untuk meningkatkan stabilitas aktivitas mikroba dan memudahkan dalam penyimpanan, bakteri itu akan dicoba ditumbuhkan pada media kering. Pollard merupakan pakan tambahan yang telah umum diberikan pada ternak ruminansia, sehingga dipilih sebagai media pembawa. Berapa banyak

probiotik yang harus ditambahkan pada pollard dan berapa lama bakteri dapat tetap hidup dalam media tersebut merupakan permasalahan dalam penelitian ini.

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- 1) Untuk mengetahui populasi bakteri selulolitik asal yoghurt sapi (YS) yang hidup sampai dengan akhir penelitian (60 hari) pada media kering pollard sebagai bahan pembawa.
- 2) Untuk mengetahui perbandingan populasi bakteri selulolitik selama penyimpanan dalam media pollard sebagai bahan pembawa.

Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi bahan aman untuk menghasilkan probiotik yang mengandung bakteri selulolitik asal rumen dalam bentuk kering sehingga lebih mudah digunakan oleh peternak.



Gambar 1. Skema Penelitian

Pengamatan dilakukan pada 3 waktu, yaitu

$$I_0 = 0 \text{ hari, } I_1 = 30 \text{ hari, dan } I_2 = 60 \text{ hari}$$

Parameter yang akan diukur dalam penelitian ini adalah:

- (1) Jumlah koloni bakteri selulolitik
- (2) Jumlah masing-masing spesies bakteri selulolitik

### Pelaksanaan Penelitian

a. Penanaman bakteri pada media pembawa:

- Tabung yang telah berisi pollard sebanyak 10 gr disterilisasi dengan autoclave.
- Dalam keadaan an-aerob, probiotik yoghurt sapi yang diinokulasikan sebanyak 2 ml, kemudian dilakukan homogenisasi.
- Inkubasi selama 0 hari, 30 hari, dan 60 hari.

b. Penumbuhan pada media cair

- Pada hari pengamatan (0, 30, dan 60 hari), dilakukan penyaringan untuk memisahkan pollard dengan bakteri.
- Bakteri diinokulasikan pada media cair, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 39°C.

c. Penumbuhan pada media agar :

- Inokulum diambil dari medium cair sebanyak 0,25 ml.
- Inokulasikan ke dalam lambu pengencer.
- Diencerkan sampai pengenceran  $10^9$  (hari ke 0),  $10^6$  (hari ke 20), dan  $10^4$  (hari ke 60).
- Dari masing-masing pengenceran diambil 0,25 ml untuk diinokulasikan pada medium agar /

padat yang sebelumnya sudah dipanaskan dalam waterbath pada suhu 50°C.

- Inkubasi selama 7 hari pada suhu 39°C.

- d. Penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada media agar. Karakterisasi bakteri dengan uji pewarnaan gram.
- e. Uji pewarnaan gram, dan bentuk morfologi bakteri.
- g. Penentuan spesies bakteri berdasarkan Tabel Lynd, et.al., (2001).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Jumlah Koloni Bakteri Selulolitik

Jumlah koloni bakteri selulolitik dihitung pada hari ke 0, 30, dan 60. Hasil pengamatan perhitungan jumlah koloni bakteri selulolitik selama 60 hari dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa terjadi penurunan yang tajam pada 30 hari pertama. Bakteri selulolitik memerlukan kondisi kandungan air yang tinggi (>80%), pemurunan kandungan air menjadi 20% menjadi faktor pembatas bagi pertumbuhan bakteri. Pada kondisi media ideal dimana lingkungan fisik (suhu, pH, konsentrasi  $O_2$ , dan teknologi osmotik) dan lingkungan kimia (air, makro nutrient, mikronutrient, dan faktor pertumbuhan) ideal, bakteri dapat tumbuh secara eksponensial (Todar, 2001). Pada penelitian ini populasi bakteri terus menurun karena pollard tidak berfungsi sebagai media pertumbuhan bagi bakteri selulolitik.

Tabel 1. Jumlah Koloni Bakteri Selulolitik

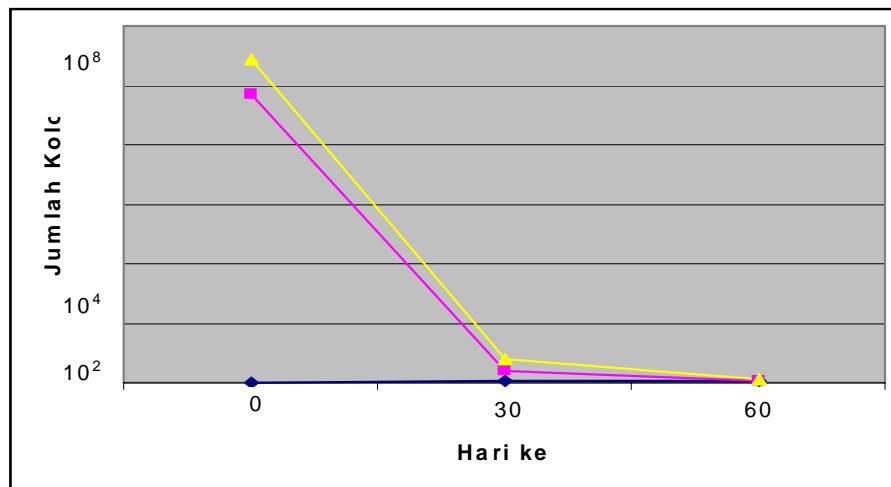
Hari ke	Jumlah Bakteri	
	1	2
0	$9.7 \times 10^7$	$1.2 \times 10^8$
30	$3.5 \times 10^4$	$4.2 \times 10^4$
60	$1.2 \times 10^2$	$2.3 \times 10^2$

Bakteri selulolitik rumen, seperti umumnya bakteri membutuhkan air dalam jumlah banyak (80–90 %), walaupun kondisi fisik lainnya mendukung, misalnya suhu 39°C dan anaerob, keterbatasan air menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan metabolisme pertukaran zat.

Penurunan populasi juga terjadi karena senyawa karbohidrat dalam pollard sebagian besar berbentuk pati bukan selulosa, substrat utama bagi bakteri selulolitik. Untuk mengetahui grafik penurunan populasi bakteri selama penelitian dapat dilihat pada gambar berikut.

### Jumlah Masing-masing Spesies Bakteri Selulolitik

Didalam cairan rumen terdapat empat species bakteri selulolitik yang dominan, yaitu : *Fibrobacter succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus*, dan *R. albus*. Untuk mengetahui species bakteri selulolitik yang hidup pada probiotik Yoghurt Sapi, dilakukan identifikasi bakteri selulolitik berdasarkan bentuk dangran, dengan hasil yang ditampilkan pada Tabel 2 dibawah



Gambar 2. Penurunan Populasi Bakteri Selama Penelitian

Tabel 2. Identifikasi Bakteri Selulolitik

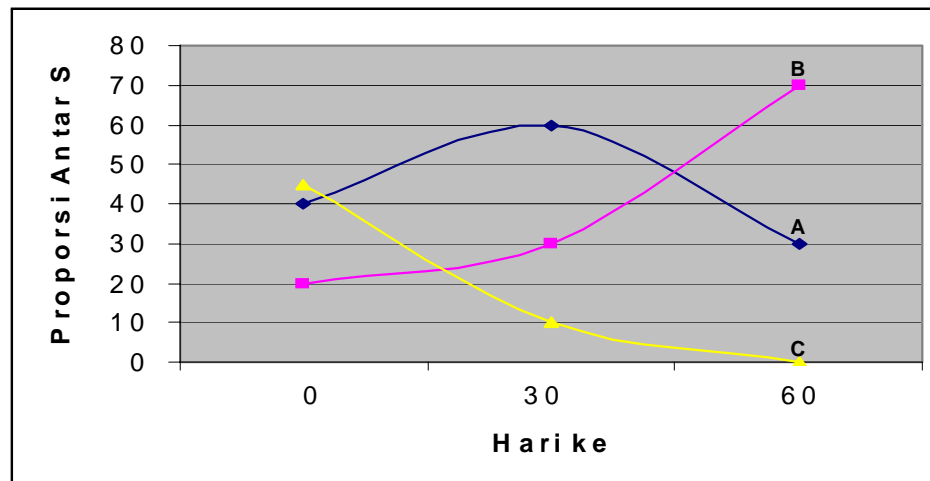
Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa species bakteri yang tumbuh pada media pollard sebagai bahan pembawa hanya 3 species. Dari ke 3 species diatas bakteri dalam bentuk coccus, *R. albus*, tidak terdapat pada pengamatan hari ke 60. Perbandingan jumlah koloni antara species bakteri selulolitik pada tiga pengamatan dapat dilihat pada gambar dibawah ini.

Pada hari ke 0 *R. albus* merupakan species yang dominan dibandingkan dua bakteri yang bebentuk basil. Proporsi *R. albus* terus menurun dan tidak teridentifikasi pada hari ke 60. Hal yang berlawanan terjadi pada *B. fibrisolvens* yang menunjukkan

dominasinya pada waktu yang lebih panjang. *B. fibrisolvens* walaupun memproduksi enzim selulase, tetapi dianggap bakteri yang paling lemah. *B. fibrisolvens* dapat juga menghidrolisis hemiselulosa.

Pada pengamatan hari ke – 60, populasi *R. albus* sudah tidak terdeteksi, sementara populasi *F. succinogenes* turun akibat lysis, hanya *B. fibrisolvens* yang mampu bertahan.

Perubahan proporsi species bakteri menunjukkan adanya kompetisi antara species bakteri pada kondisi substrat yang berbeda.



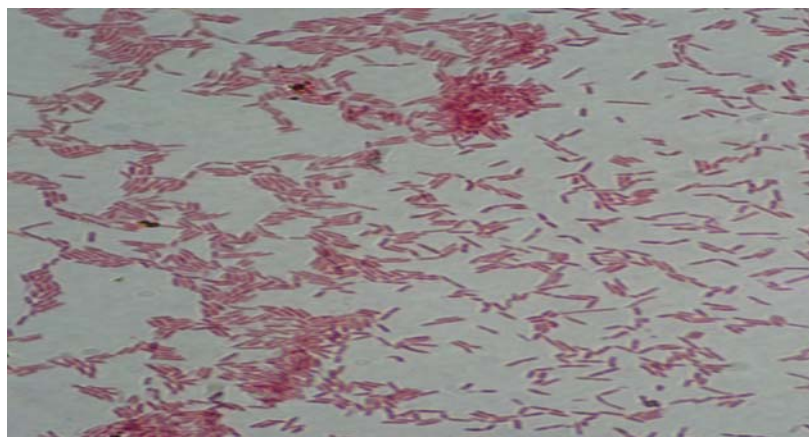
Gambar 2. Perbandingan Jumlah Koloni Antara Spesies Bakteri Selulolitik Pada Tiga Pengamatan

Keterangan

A : *Fibrobacter succinogenes*

B : *Butyriifibrio fibrisolven*

C : *Ruminococcus albus*



Gambar 3. *Fibrobacter succinogenes*

*Fibrobacter succinogenes* merupakan salah satu bakteri selulolitik rumen berbentuk basil dan bersifat gram negatif. Seperti halnya bakteri rumen lainnya, *F. succinogenes* membutuhkan kondisi anaerob untuk dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. *F. succinogenes* termasuk kelompok bakteri mesophyl yang memiliki kisaran suhu optimum 25°–40°C, bakteri ini tidak mampu membentuk spora bila kondisi lingkungan tidak sesuai lysis pada umumnya terjadi pada fase stationer dimana bakteri membutuhkan nutrisi lebih banyak, tetapi *F. succinogenes* mengalami lysis lebih cepat. Pada kondisi stress, peptidoglycan dideposit pada permukaan terdalam dan tertua, permukaan luar kemudian dipotong oleh enzim otolitik. Proses sintesis dan degradasi yang terus-menerus menyebabkan stress ditransfer ke bagian-bagian yang baru saja mensintesis peptidoglycan (Wells and Russel, 1996).

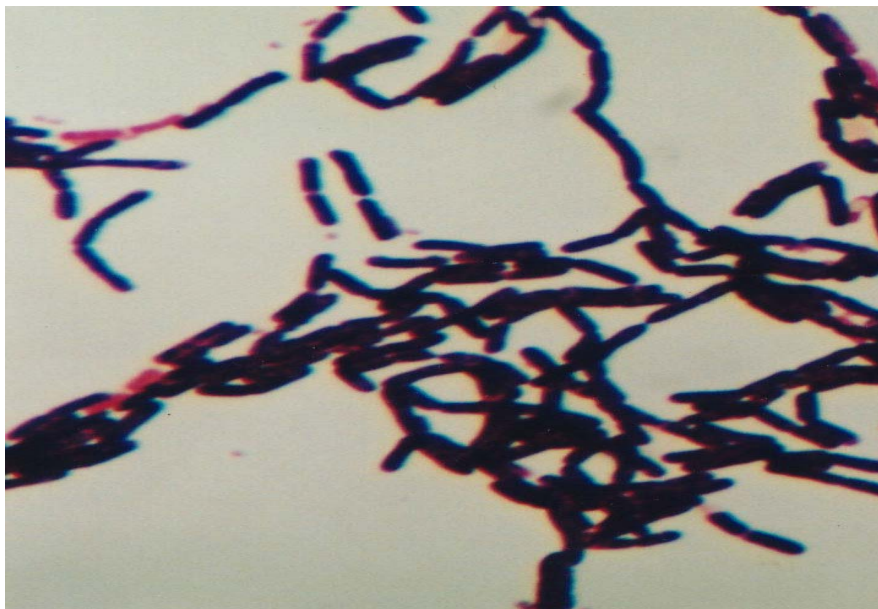
Didalam rumen hasil fermentasi karbohidrat oleh *F. succinogenes* adalah suksinat, asetat dan format (Brock and Madiggan, 1991). Glykosida yang berada pada membran luar *Cellulosa Binding Protein* (CBP) dari *F. succinogenes* akan menstimulasi cellobiosidase, yang memegang peranan penting pada pelekatan dengan selulosa (Miron etal, 2001).

Populasi *F. succinogenes* tidak banyak dipengaruhi oleh konsentrasi amonia atau asam amino yang disebabkan oleh perbedaan persentase protein

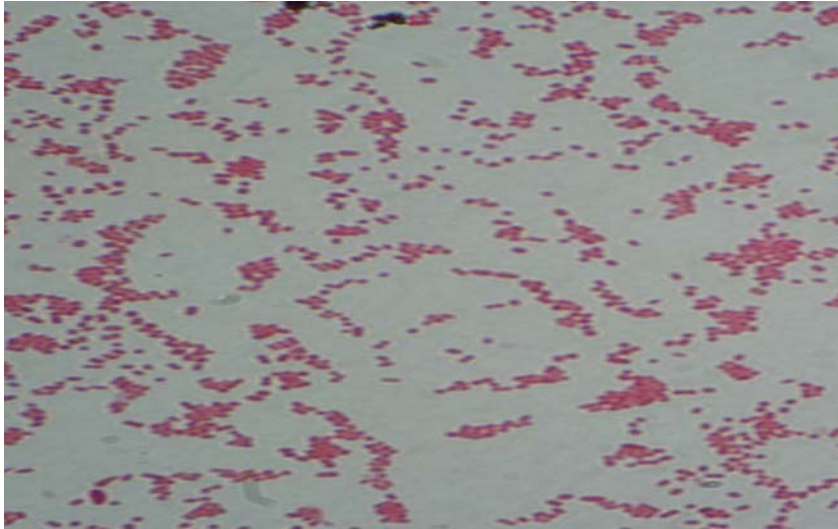
pakan, sebaliknya populasi *F. succinogenes* lebih tinggi pada sapi yang mengkonsumsi serat kasar tinggi dibandingkan pakan dengan serat kasar rendah (Weimer, etal 1999). *F. succinogenes* berinteraksi secara sinergis dengan bakteri-bakteri non selulolitik selama mencerna hijauan. Hal ini dibuktikan dengan meningkatnya pencernaan hemiselulosa dan pectin orchard grass bila pada kultur terdapat *Prerotella ruminocola*, dan *F. succinogenes* secara bersama, dibandingkan bila hanya mengandung *F. succinogenes* (Varga, dan Kolver, 1997).

*F. succinogenes* merupakan salah satu bakteri paling aktif yang pernah diisolasi dari rumen, tetapi ekstrak sel bakteri ini memiliki aktivitas selulase kristal yang sangat rendah. Enzim *b-glucanase* yang diisolasi dari *F. succinogenes* juga tidak menunjukkan aktivitas selulase (Maglione, et.al., 1997).

*Butyrifibrio fibriosolvens* merupakan bakteri rumen pencerna serat terbentuk batang dan gram positif. Hasil fermentasi katbohidrat oleh *B. fibriosolvens* meliputi asetat, format, laktat, butirir, H<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub>. *B. fibriosolvens* termasuk kelompok bakteri mesophyl, yang dapat tumbuh dengan baik pada suhu 25°–40°C. Bakteri ini memiliki flagela, sehingga bersifat motil. Populasi *B. fibriosolvens* cenderung meningkat bila proporsi konsentrat pakan juga meningkat (Varrel and Dehority, 1989). Populasi *B. fibriosolvens* pada sapi lebih tinggi dibandingkan pada bison dengan kondisi pakan yang sama.



Gambar 4. Sediaan sel sel bakteri selulolitik  
*Butyrivibrio fibriosolvens*



Gambar 5. Sediaan sel bakteri selulolitik  
(*Ruminococcus albus*)

Perubahan populasi dari *B. fibrisolvans* dan bakteri selulolitik lainnya didalam rumen juga diikuti dengan perubahan tingkat pencernaan serat kasar; hemiselulosa dan selulosa (Varel and Dehority, 1989). Hal ini sesuai dengan pendapat Robinson, 1989 yang menyatakan bahwa pemberian pakan campuran yang (hijauan dan konstanta) akan menyediakan nutrisi yang lengkap bagi bakteri rumen. *Butyrifibrio fibrisolvans* walaupun menghasilkan enzim selulase seringkali dianggap sebagai bakteri selulolitik yang paling lemah, peranan *B. fibrisolvans* lebih dominan pada hidrolisis hemiselulosa.

Asetat, format, H<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub> merupakan produk akhir fermentasi karbohidrat oleh *Ruminococcus albus*. Seperti halnya *F. succinogenes*, *R. albus* merupakan bakteri gram negatif. *Ruminococcus* memproduksi sejumlah besar enzim selulase (> 2.000.000 berat molekul) yang diekskresikan kedalam rumen untuk mendegradasi selulosa (Brock and Medigan, 1991). Bertolak belakang dengan *B. fibrisolvans*, populasi *R. albus* pada rumen sapi akan menurun seiring dengan meningkatnya proporsi konsentrat pada pakan (Varel and Dehority, 1989).

*R. albus* paling tidak memiliki 2 mekanisme dalam pelekatan dengan selulosa; mekanisme selulosomal, dan mekanisme Cellulose Binding Protein Complex (Mirron *et.al.*, 2001). Pada kondisi substrat selulosa yang terbatas, *R. albus* merupakan mikroba selulolitik dengan populasi terendah dibandingkan *R. flavefaciens* dan *F. succinogenes* (Shi and Weimer, 1995).

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

Populasi bakteri selulolitik dari Yoghurt Sapi pada pollard mengalami penurunan secara drastis dari 10<sup>8</sup> pada hari ke 0 menjadi 10<sup>2</sup> pada hari ke 60. Terjadi perubahan proporsi populasi dari ketiga spesies yang teridentifikasi dalam Yoghurt Sapi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Brock, T.D. and Michael T. Madigan. 1991. Biology of Microorganism. Sixth Edition. Prentice Hall. Englewood Cliffs. New Jersey. 07632
- Fuller, R. 2002. History and Development of Probiotics. Russet of House Ryeish Green, Reading Berkshire.
- Maglione G., J.E. Wells and J.B. Russel. 1997. Kinetic of Cellulose Digestion by Fibrinolytic Bacteria. 585. Dairy Forage Research Center Research Summaries.
- Miron, J., D. Ben-Ghedalia and M. Morisson, 2001. Invited Review: Adhesion Mechanism of Rumen Cellulolytic Bacteria. Journal of Doing Science, Vol. 84, Issue 6.
- Shi, Y. and P.J. Weimer, 1995. Predicted Outcome of Competition Among Ruminant Cellulolytic Bacteria for Soluble Product of Cellulose

Digestion. U.S Dairy Forage Research Center  
Research Summaries.

Robinson Sniffen C.J. PH. 1987. Microbial Growth  
and Flow as Influences By Dietary Manipulation.  
J. Dairy Science Vol. 70.

Varga, G. A. and Erie S. Kolver. 1997. Microbial  
and Animal Limitation to Fiber Digestion and  
Utilization. The Journal of Nutrition Vol 127 No.  
5.

Varrel, V.H. and Burk A. Dehority. 1989. Ruminant  
Cellulolytic Bacteria and Protozoa From Bison,  
Cattle – Bison Hybrids, and Cattle Feed Three  
Alfalfa – Coin Diets. Applied and Environmental  
Microbiology. Vol. 55 No. 1

Weimer P.J. *et.al.*, 1999. Effect of Diet on Population  
of Three Species of Ruminant Cellulolytic  
Bacteria in Lactating Dairy Cows. Journal of  
Dairy Science. Vol. 82

Wells J. E and JB. Russel. 1996. The Lysis of  
*Fibrobacter Succinogenes*. V. S. Dairy Forage  
Research Center. Research Summaries.