

PENGARUH METODE PEMBERIAN PROBIOTIK *LACTOBACILLUS* SP. TERHADAP TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT DAN *COLIFORM* USUS HALUS AYAM BROILER

Johanna Tio Naomi Simorangkir, Bambang Sulistyanto* dan Sri Sumarsih

Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

*Korespondensi email: bambangsulistyanto@lecturer.undip.ac.id

Abstrak. Penelitian bertujuan untuk mengkaji pengaruh metode pemberian probiotik *Lactobacillus* Sp. dari isolat usus ayam terhadap total bakteri asam laktat dan *Coliform* usus halus ayam broiler. Materi yang digunakan adalah 200 ekor *day old chicken* (DOC) broiler dengan bobot awal rata-rata $46,97 \pm 8,5$ g, pakan komersial tanpa *antibiotic growth promotor* (AGP), probiotik *Lactobacillus* Sp., dan alat *force feeding*. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuannya adalah T0 : tanpa probiotik (kontrol), T1 : probiotik 1 ml dengan *force-feeding*, T2 : probiotik 2 ml/100 g pakan, dan T3 : probiotik 2 ml/100 ml air minum. Parameter yang diamati adalah total bakteri asam laktat dan *Coliform* usus halus ayam broiler. Analisis data menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa berbagai metode pemberian tidak terdapat perbedaan dan pemberian probiotik mampu meningkatkan kandungan total bakteri asam laktat dan menurunkan *Coliform* di usus halus ayam ($P < 0,05$). Disimpulkan bahwa isolat bakteri asam laktat dapat diberikan pada ayam dengan metode *force-feeding*, dalam pakan, dan dalam air minum.

Kata kunci: metode pemberian probiotik, ayam broiler, bakteri asam laktat, *Coliform*, *Lactobacillus* Sp.

Abstract. The study was conducted to determine effect of administering methods of probiotic *Lactobacillus* Sp. isolated from chicken intestinal to the total lactic acid bacteria and *Coliform* in the small intestine of broiler chickens. The materials used in the study were 200 *Day Old Chickens* (DOC) with average initial weight $46,97 \pm 8,5$ g, commercial feed AGP's free, probiotic *Lactobacillus* Sp. and force feeding equipments. The study conducted by randomized block design (RBD) with 4 treatments and 5 replications. The treatments were T0 : no probiotics (control), T1 : probiotics 1 ml by force-feeding, T2 : probiotics 2 ml/100 g in feed, and T3 : probiotics 2 ml /100 ml in drinking water. The parameters observed were total lactic acid bacteria and *Coliform* in the small intestine of broiler chicken. The data were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA) and followed the Duncan Multiple Range Test. The result showed that although the administering method was no different, the probiotics was able to increased total lactic acid bacteria and decreased *Coliform* in the small intestinal of chicken ($P < 0,05$). It concluded that lactic acid bacteria can be given to chickens by force-feeding, in feed, and in drinking water.

Keywords: administering method of probiotic, broiler chicken, lactic acid bacteria, *Coliform*, *Lactobacillus* Sp.

PENDAHULUAN

Probiotik merupakan pakan tambahan berupa mikroba hidup yang memberikan efek menguntungkan bagi inang dengan memperbaiki keseimbangan mikroba saluran pencernaan. Pada

saat ini, pemberian probiotik digunakan sebagai pengganti antibiotik (Sugiharto, 2014). Sebagai pengganti penggunaan *antibiotic growth promoters* (AGP) dalam meningkatkan produktivitas dan pengendalian penyakit pada ayam. Hal ini digunakan mengingat penggunaan AGP pada pakan memberikan dampak negatif, resistensi bakteri dan residu pada produk unggas. Pelarangan penggunaan antibiotik sudah diatur dalam Nomor 22/PERMETAN/PK-110/6/2017 tentang pendaftaran dan peredaran pakan, sehingga para peternak membutuhkan alternatif pengganti antibiotik.

Probiotik memiliki karakteristik, yaitu bakteri biasa ditemukan di saluran pencernaan, meningkatkan sistem imun, dapat bertahan hidup dan berkolonisasi dalam kondisi saluran pencernaan, dapat melakukan fermentasi yang menyebabkan perubahan metabolisme sehingga memberikan efek yang menguntungkan pada inang (Markowiak dan Slizewska, 2018).. Salah satu bakteri yang digunakan sebagai probiotik adalah *Lactobacillus* Sp. yang diisolat dari usus ayam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat mampu hidup dalam kondisi oksigen yang terbatas, bersaing dengan bakteri patogen untuk menempel pada dinding usus halus dan menyerap nutrisi, dapat hidup di dalam saluran pencernaan dengan pH 2 – 6,5 dan tahan terhadap garam empedu. *Lactobacillus* Sp. memiliki daya hambat terhadap bakteri patogen dengan menghasilkan bakteriosin (Jannah *et al.*, 2018), serta dapat memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan asam laktat yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Sumarsih dan Sulistyanto, 2019).

Probiotik diberikan secara kontinyu dengan dosis yang tepat sebagai pengganti AGP untuk mencegah resistensi bakteri tertentu dan meningkatkan hormon pertumbuhan. Oleh karena itu, untuk mencapai efek yang diinginkan dari penggunaan *Lactobacillus* Sp. sebagai probiotik untuk memacu pertumbuhan adalah memastikan bahwa probiotik dapat bertahan dan berkoloni di dalam usus halus. Pemberian probiotik perlu menggunakan metode yang tepat untuk mendapatkan efek probiotik yang baik.

Pemberian probiotik dapat dilakukan metode *force feeding*, dicampur dengan pakan, atau dicampur dengan air minum. Metode *force feeding* menggunakan alat bantuan alat suntik menuju tembolok, sehingga probiotik langsung dicerna dalam tubuh ternak (Sari dan Faathir, 2013). Kelemahan dari metode ini adalah dapat menyebabkan ternak menjadi stress. Probiotik yang diberikan dalam campuran pakan dan air minum mudah diaplikasikan, namun memiliki kelemahan mudah terkontaminasi dengan bakteri luar. Ketiga metode pemberian probiotik merupakan metode yang paling sering digunakan oleh peternak, sehingga menimbulkan pertanyaan mengenai efektifitas penggunaan dan pengaruhnya terhadap kondisi mikroflora usus halus unggas.

Penelitian bertujuan untuk mengkaji pengaruh metode pemberian probiotik *Lactobacillus* Sp. yang diisolat dari usus ayam terhadap total bakteri asam laktat dan *Coliform* usus halus ayam broiler. Manfaat penelitian adalah untuk memberikan informasi untuk peternak ayam broiler mengenai metode pemberian yang efektif dan efisien dari probiotik *Lactobacillus* Sp. yang diisolat dari usus ayam terhadap total bakteri asam laktat dan *Coliform* usus halus ayam broiler. Hipotesis penelitian adalah metode pemberian probiotik *Lactobacillus* Sp. menunjukkan efektifitas yang berbeda meningkatkan total bakteri asam laktat dan menurunkan *Coliform* usus halus ayam broiler.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada November 2018 – Juni 2019 di Laboratorium Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Materi yang akan digunakan adalah 200 ekor *day old chicken* (DOC) ayam broiler dari PT. Charoend Pokphand, Tbk. strain *Cobb unsex*, probiotik *Lactobacillus* Sp. yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro Semarang, dan pakan komersial BR-1 dan BR-IAJ tanpa AGP dari PT. Charoend Pokphand, Tbk., dan air minum.

Tabel 1. Kandungan Nutrisi Pakan BR-1 dan BR-IAJ

Komposisi	Proporsi	
	BR-1 (%)	BR-IAJ (%)
Kadar air	13	13
Protein	21-23	20,5-22,5
Lemak	5	5
Serat kasar	5	5
Abu	7	7
Calcium	0,9	0,9
Phospor	0,6	0,6

Sumber: Label Kandungan Nutrisi Pakan PT. Charoend Pokphand, Tbk.

Peralatan yang akan digunakan adalah kandang yang berisi 20 pen, lampu, tempat pakan dan air minum, timbangan, alat *force feeding*, *mixer*, *spiritus*, alkohol, pH meter digital, pisau, nampan, dan plastik. Alat yang digunakan untuk analisis bakteri adalah oven, erlenmeyer, cawan petri, inkubator, tabung reaksi, pipet, *counter*. Medium yang digunakan adalah *cromucult agar* (CCA) dan *deMann rogosa sharpe agar* (MRSa).

Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan 4 perlakuan (T0, T1, T2, T3), tiap unit percobaan terdiri dari 10 ekor ayam broiler. Perlakuan yang diterapkan adalah metode pemberian probiotik *Lactobacillus* Sp. yang berbeda yaitu:

- T0 : tanpa pemberian probiotik
- T1 : pemberian probiotik melalui *force feeding*

T1 : pakan dengan penambahan probiotik

T3 : air minum dengan penambahan probiotik

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA), dengan uji F untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter dengan taraf signifikansi 5%, dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Steel dan Torrie, 1991).

Prosedur penelitian dilakukan dengan pembuatan probiotik *Lactobacillus* Sp. dimulai dari isolasi bakteri asam laktat dari usus ayam ± 10 cm, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl fisiologis 4,5 ml dan dihomogenkan. Larutan diambil sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam MRS Broth 4,5 ml, dihomogenkan, dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Larutan diambil sebanyak 0,5 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl fisiologis 4,5 ml dan dilakukan pengenceran sampai pengenceran 10^{-7} . Pada pengenceran 10^{-6} dan 10^{-7} , masing-masing diambil 0,5 ml dan dikultur pada MRS agar, diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C, dan dilakukan pengamatan hasil kultur. Sub kultur dilakukan pada MRS cair 4,5 ml dan diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Dikultur kembali di MRS agar untuk mendapatkan *Lactobacillus* Sp. murni dan diinkubasi. Bakteri yang tumbuh diinokulasi ke dalam MRS Broth, diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C dan dihitung total koloni dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ cfu/ml berdasarkan metode *Standard Plate Count* (SPC). Persiapan kandang meliputi membersihkan kandang, melakukan pengapuran dan fumigasi menggunakan formalin, mempersiapkan tempat pakan dan air minum, serta memasang lampu, tirai, dan mempersiapkan pakan komersial.

Pelaksanaan penelitian dimulai dari DOC yang baru datang diberikan larutan air gula. Setiap pen terdiri dari 10 ekor ayam dengan 1 tempat pakan dan minum. Pemeliharaan dilakukan selama 30 hari. Pemberian pakan dilakukan 2 kali dalam sehari dan air minum dilakukan secara *ad libitum*. Pemberian perlakuan untuk T0 tidak diberikan probiotik, T1 diberikan secara *force feeding* menggunakan spuit sebanyak 1 ml/ekor/2 hari pada fase starter dan 1 ml/ekor/3 hari pada fase finisher di pagi hari, T2 diberikan melalui campuran pakan sebanyak 2 ml/100 g pakan yang akan diberi dan dicampur dengan menggunakan *mixer* sebelum diberikan kepada ternak, dan T3 diberikan melalui campuran air minum sebanyak 2 ml/100 ml air minum yang akan diberi sebelum diberikan kepada ternak.

Pengumpulan data dimulai dari pengambilan data pada hari ke- 30 dengan mengambil 20 ekor sebagai sampel, masing-masing 1 ekor tiap perlakuan dan ulangan. Sampel ayam disembelih dan diambil saluran pencernaannya dan usus halus dipisahkan. pH sampel digesta diukur dan dimasukkan ke dalam plastik klip dan dibawa ke laboratorium untuk pengujian parameter.

Persiapan media dilakukan sebagai tempat kultur bakteri. Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisikan 9 ml aquades, dihomogenisasi, diencerkan sampai pengenceran 10^{-8} . Sampel tersebut ditanam pada cawan petri yang berisi media CCA untuk identifikasi *Coliform*, MRSA untuk bakteri asam laktat, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk *Coliform* dan 48 jam untuk bakteri asam laktat. Perhitungan total bakteri asam laktat dan *Coliform* dilakukan dengan menggunakan metode hitung *Standard Plate Count* (Fardiaz, 1993).

$$\text{Total koloni} \times \frac{1}{\text{Dilusi}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap ayam broiler yang diberi perlakuan metode pemberian probiotik *Lactobacillus* Sp. berbeda disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Total Bakteri Asam Laktat, *Coliform*, pH Usus Halus, dan Pertambahan Bobot Badan Ayam Broiler

Variabel	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
Total BAL (cfu/ml)	12,3 x10 ^{6b}	3,75 x 10 ^{7a}	4,07 x 10 ^{7a}	3,79 x 10 ^{7a}
Total <i>Coliform</i> (cfu/ml)	4,60 x 10 ^{6a}	5,22 x 10 ^{4b}	4,94 x 10 ^{4b}	5,36 x 10 ^{4b}
pH Usus Halus	6,52 ^a	6,88 ^a	6,46 ^a	6,76 ^a
Pertambahan Bobot Badan (g)	1079,2 ^a	1088,0 ^a	1090,4 ^a	1051,2 ^a

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Total Bakteri Asam Laktat Usus Halus Ayam Broiler

Tabel 1 menunjukkan bahwa secara statistik perlakuan *forcefeeding* (T1), campuran pakan (T2), dan campuran air minum (T3) berpengaruh nyata ($P < 0,05$) meningkatkan total bakteri asam laktat. Perlakuan T1, T2, dan T3 berbeda nyata lebih tinggi dibandingkan tanpa pemberian probiotik (T0). Perlakuan T1, T2, dan T3 tidak menunjukkan efektifitas yang berbeda meningkatkan total bakteri asam laktat.

Metode pemberian probiotik melalui *force feeding* merupakan metode makan paksa, sehingga dosis probiotik yang diberikan seluruhnya dan masuk ke dalam saluran pencernaan. Metode pemberian pakan yang dicampur dengan probiotik, menghidrolisis pakan dan mengalami proses fermentasi oleh mikroba sebelum dimakan. Setiawati *et al.*, (2013) menambahkan proses fermentasi dilakukan dengan mengurai materi pakan yang sulit dicerna, sehingga membantu proses pencernaan pakan lebih cepat. Metode probiotik dalam air minum memudahkan probiotik masuk ke dalam saluran pencernaan dan mikroorganisme lebih aktif di dalam air.

Pemberian probiotik dapat meningkatkan total bakteri asam laktat di dalam usus halus. Jumlah bakteri asam laktat pada usus halus yang dihasilkan adalah $3,75 \times 10^7$ – $4,07 \times 10^7$. Hasil penelitian Faradila *et al.*, (2016), pemberian probiotik dapat menghasilkan bakteri asam laktat 10^6 – 10^7 , sedangkan menurut Manin *et al.*, (2014), pemberian probiotik menghasilkan 10^9 bakteri asam laktat pada usus halus. Nilai bakteri asam laktat yang dihasilkan menunjukkan kisaran normal. Bakteri asam laktat memanfaatkan protein dan karbohidrat untuk pertumbuhan. Menurut Widodo *et al.*, (2015), bakteri asam laktat membutuhkan karbohidrat sebagai sumber energi pembentukan asam laktat dan protein sebagai pembentuk biomassa sel.

Perlakuan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap pertambahan bobot badan ($P < 0,05$). *Lactobacillus* Sp. yang tumbuh dan berkoloni di dalam usus halus kurang mampu berperan dalam proses digesti untuk meningkatkan pertambahan bobot badan. Menurut Fitasari dan Afrila (2015), efektifitas probiotik dipengaruhi oleh jenis dan daya tahan bakteri, metode dan frekuensi pemberian, pakan, umur unggas, serta kondisi lingkungan.

Total Coliform Usus Halus Ayam Broiler

Tabel 2 secara statistik menunjukkan bahwa perlakuan *forcefeeding* (T1), campuran pakan (T2), dan campuran air minum (T3) berpengaruh nyata ($P < 0,05$) menurunkan total *Coliform*. Perlakuan T1, T2, dan T3 berbeda nyata lebih rendah dibandingkan tanpa probiotik (T0). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan metode pemberian probiotik *Lactobacillus* Sp. menurunkan total *Coliform*. Penurunan total *Coliform* pada perlakuan T1, T2, dan T3 berkaitan dengan adanya pemberian probiotik *Lactobacillus* Sp. juga didukung oleh peningkatan total bakteri asam laktat (Tabel 2).

Metode pemberian probiotik *Lactobacillus* Sp. melalui *force feeding*, dapat menghindari kontaminasi bakteri patogen dari luar dengan dosis yang tepat menuju tembolok dan diteruskan ke saluran pencernaan. Metode pemberian probiotik yang dicampur pakan akan meningkatkan kualitas pakan dan metode probiotik dicampur air minum yang langsung menuju saluran pencernaan, dapat meningkatkan aktivitas saluran pencernaan dan menghambat bakteri patogen. Menurut Pratt (1992), metode pemberian probiotik harus memperhatikan sifat bakteri anaerob yang sensitif terhadap lingkungan, yaitu oksigen, kelembaban udara, suhu, dan bahan kimia. Faktor pertumbuhan *Coliform* dipengaruhi oleh kadar air dan mengaktifkan enzim, sehingga mikroorganisme dapat tumbuh.

Coliform merupakan bakteri yang sensitif terhadap suasana asam. Bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Cahyaningsih *et al.*, (2013) menyatakan bahwa asam laktat dapat melepaskan ion hidrogen, menembus dinding sel bakteri

Coliform, sehingga terjadi penurunan pH di dalam sel dan mengakibatkan bakteri berhenti tumbuh dan mati. Menurut Lestari dan Helmyati (2018), hidrogen peroksida memberikan efek oksidasi yang dapat merusak membran sel bakteri. Hasil penelitian Chotiah (2013) menyatakan bahwa mekanisme kerja bakteriosin adalah pembentukan pori dalam membran sitoplasma atau penghambatan biosintesis dinding sel dan aktivitas enzim dalam sel target. Pemberian probiotik seharusnya dapat menurunkan pH usus halus, namun dalam penelitian ini tidak terjadi. Probiotik *Lactobacillus* Sp. mampu menekan pertumbuhan *Coliform*, namun tidak mampu menurunkan pH usus halus.

KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian probiotik *Lactobacillus* Sp. meningkatkan total bakteri asam laktat dan menurunkan *Coliform* pada usus halus ayam broiler, meskipun tidak terdapat perbedaan dalam cara pemberiannya. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengetahui daya tahan probiotik di dalam saluran pencernaan ayam broiler

REFERENSI

- Cahyaningsih, N. Suthama, dan B. Sukamto. 2013. Kombinasi vitamin E dan bakteri asam laktat (BAL) terhadap konsentrasi BAL dan potensial hidrogen (pH) pada Ayam Kedu dipelihara secara *in situ*. *Journal Animal Agriculture* 2(1): 35-43.
- Chotiah, S. 2013. Potensi bakteriosin untuk kesehatan hewan dan keamanan bahan pangan. Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor.
- Faradila, S., N. Suthama, dan B. Sukamto. 2016. Kombinasi inulin umbi dahlia-*Lactobacillus* sp yang mengoptimalkan perkembangan mikroflora usus dan pertumbuhan persilangan ayam *Pelung-Leghorn*. 17(2): 168-175.0
- Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. Edisi Pertama. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Fitasari, E. dan A. Afrila. 2015. Efek probiotik pada aplikasi kadar protein kasar pakan yang berbeda terhadap efisiensi pakan ayam kampung. *Buana Sains*. 15(1): 35-44.
- Jannah, S. N., T. Saraswati, D. Handayani, dan S. Pujiyanto. 2018. Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from gastrointestinal tract of “Ayam Kampung” chicken against food pathogens. *Journal Physics: Conference Serial*. 1025(1): 1-7.
- Lestari, L. A. dan S. Helmyati. 2018. Peran Probiotik di Bidang Gizi dan Kesehatan. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Manin, F., E. Hendalia, Yatno, dan P. Rahayu. 2014. Dampak pemberian probiotik Probio_FM terhadap status kesehatan ternak itik kerinci. *Jurnal Ilmu Ternak* 1(2): 7-11.
- Markowiak, P. dan K. Slizewska. 2018. The role of probiotics, prebiotics, and synbiotics in animal nutrition. *Journal of Gut Pathogens*. 10(21): 1 – 20.
- Pratt, W. C. 1992. *Methods for maintaining and administering live probiotic as feed additives for animal*, US Patent 5401501.

- Sari, M. L. dan R. Faathir. 2013. Performa ayam arab fase starter yang disuplementasi dengan kultur bakteri asam laktat. Prosiding Seminar Nasional di Bidang Pertanian, Pontianak. 19 – 20 Maret 2013. Hal. 767 – 774.
- Setiawati, J. E., Tarsim, Y. T. Adiputra, dan S. Hudaidah. 2013. Pengaruh penambahan probiotik pada pakan dengan dosis berbeda terhadap pertumbuhan, kelulushidupan, efisiensi pakan, dan retensi protein Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan. 1(2): 151 – 162.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1991. Prinsip dan Prosedur Statistika. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Sugiharto, S. 2014. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. Journal Saudi Social Agriculture. 1-13.
- Sumarsih, S. dan B. Sulistiyanto. 2019. The effect of *Lactobacillus salivarius* I-11 on microbial population of pellet duck feed. Journal Advance in Engineering Research. 167: 368-371.
- Widodo, T. S., B. Sulistiyanto, dan C. S. Utama. 2015. Jumlah bakteri asam laktat dalam digesta usus halus dan sekum ayam broiler yang diberi pakan ceceran pabrik pakan yang difermentasi. Jurnal Agripet. 15(2): 98-103.
- Zulkifli, I., H. S. I. Rahayu, A. R. Alimon, M. K. Vidyadaran, dan S. A. Babjee. 2009. Gut microflora and intestinal morphology of commercial broiler chickens and red jungle fowl fed diets containing palm kernel meal. Journal Arch Geflugelk. 73(1): 49 – 55.