

Uji Kelayakan Sinbiotik (*Lactobacillus plantarum*) dan Limbah Ekstraksi Temulawak) sebagai Upaya Produksi Sinbiotik Rendah Kolesterol

Properness Test of Sinbiotik (L. plantarum and Turmeric Extraction Waste) for Production of Low Cholesterol Synbiotic

A. I. Fauzi, G. B. Pramana, M. Z. Asror dan D. Samsudewa

Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro
Corresponding e-mail : daudreproduksi@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this research was to observe sinergy symbiotic of probiotic (*L. plantarum*) and prebiotic (turmeric extraction waste), endurance of *L. Plantarum* to the patogenic bacteria, acid pH and bile salt. Thirty six sample probiotic on agarose medium content with different percentage of turmeric extraction waste were used in livability test, four isolate of *L. plantarum* were used on bacteria challenge test and six isolate bacteria were used on the pH and bile salt endurance test. Data of *L. plantarum* livability were analized used analysis of variance and the other parameter were analized used descriptive qualitative. The results showed that bacteria colony number on 1%, 2% and 3% percentage of turmeric were 0.8×10^8 , 2.3×10^8 dan 1.3×10^8 , respectively. *L. plantarum* was passed the challenge test to the *Salmonella sp.* and *Staphylococcus sp.* *L. plantarum* had endurance to the pH 1.5 to 6,5 and 1 to 6 mL bile salt. Conclusion of the research was *L. plantarum* had sinergy with turmeric extraction waste to form sinbiotik low cholesterol. *L. Plantarum* has endurance to the *Salmonella sp.* and *Staphylococcus sp.*, pH acid 1,5 to 6,5 and 1 to 6 mL bile salt.

Key words: turmeric extraction waste, *L. plantarum* and sinbiotik

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui sinergitas simbiosis probiotik (*L. plantarum*) dan prebiotik (limbah ekstraksi temulawak), ketahanan *L. plantarum* terhadap bakteri patogen, pH asam dan garam empedu. Tiga puluh enam sampel probiotik dalam medium agar berisi limbah temulawak dengan persentase yang berbeda digunakan dalam uji daya hidup bakteri, Empat isolat bakteri *L. plantarum* digunakan dalam uji tantangan bakteri dan enam isolat bakteri *L. plantarum* digunakan dalam uji ketahanan pH asam dan garam empedu. Data hasil penelitian daya hidup bakteri *L. plantarum* dianalisis menggunakan analisis varian, sedangkan parameter yang lain menggunakan analisis deskriptif kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada persentase temulawak 1%, 2% dan 3 % berturut-turut adalah $0,8 \times 10^8$, $2,3 \times 10^8$ dan $1,3 \times 10^8$. Uji tantangan bakteri *L. plantarum* terhadap *Salmonella sp* dan *Staphylococcus sp.* menunjukkan daya tahan yang baik. Uji ketahanan pH asam dan garam empedu menunjukkan ketahanan *L. plantarum* pada pH 1,5-6,5 dan garam empedu 1-6 mL. Kesimpulan dari penelitian ini adalah *L. plantarum* memiliki sinergitas simbiosis dengan limbah ekstraksi temulawak untuk menyusun sinbiotik rendah kolesterol. *L. plantarum* juga memiliki ketahanan terhadap bakteri *Salmonella sp.* dan *Staphylococcus sp.*, pH 1,5-6,5 dan garam empedu 1-6 mL.

Kata kunci : Limbah temulawak, *Lactobacillus plantarum* dan sinbiotik

PENDAHULUAN

Itik merupakan salah satu ternak yang diminati untuk dikembangkan oleh peternak di Indonesia. Itik merupakan jenis ternak dwiguna karena dapat menghasilkan daging dan telur. Telur itik menjadi salah satu produk itik yang sangat digemari karena memiliki rasa yang khas dan nilai gizi tinggi. Namun, telur itik memiliki kandungan

kolesterol yang tinggi berkisar 824,02-880,14 mg/100 g (Saty *et al.*, 2014). Upaya menurunkan kadar kolesterol pada telur itik belum banyak dilakukan. Namun, untuk upaya menurunkan kadar kolesterol telur beberapa unggas yang lain sudah banyak dilakukan antara lain dengan penggunaan kulit bawang merah (Teru *et al.*, 2017) dan kunyit (Putra dan Mansur, 2017). Upaya tersebut sampai saat ini belum optimum

karena keterbatasan mekanisme penurunan kolesterol.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengoptimalkan penurunan kolesterol adalah penggunaan sinbiotik (simbiosis antara probiotik dan prebiotik). Probiotik adalah mikroba hidup dalam jumlah yang cukup untuk mempengaruhi komposisi dan ekosistem mikroflora pencernaan (Haryati, 2011). Di lain pihak prebiotik adalah bahan makanan yang tidak dapat dicerna dan mempunyai pengaruh yang menguntungkan pada inang melalui stimulasi pertumbuhan dan atau aktivitas secara selektif terhadap satu atau beberapa jenis mikroba menguntungkan dalam pencernaan (Haryati, 2011). Sinbiotik merupakan kombinasi antara probiotik dan prebiotik yang menjadi substrat untuk mengubah mikroekologi usus sehingga mikroba yang menguntungkan akan tumbuh dengan baik. Sinbiotik dapat menurunkan kolesterol telur karena mikroba dalam probiotik selain memanfaatkan oligosakarida dalam prebiotik juga memanfaatkan kolesterol dalam saluran pencernaan untuk proses metabolismenya, sehingga akan menurunkan ketersediaan kolesterol untuk inangnya (Sari *et al.*, 2017). Penggunaan sinbiotik harus memperhatikan kemampuan bersimbiosis antara probiotik dan prebiotik yang digunakan. Probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *L. plantarum* sedangkan prebiotiknya yaitu limbah temulawak. Oleh karena itu melalui penelitian ini dilakukan pengujian kemampuan bersimbiosis antara probiotik dan prebiotik yang digunakan, ketahanan *L. plantarum* terhadap bakteri patogen, pH asam dan garam empedu.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Juni 2018. Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi Pakan, Universitas Diponegoro Semarang dan Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Muhamadiyah Semarang. Materi penelitian yang digunakan dalam uji daya hidup bakteri

L. Plantarum adalah 36 sampel probiotik, uji tantang bakteri adalah 4 sampel isolat bakteri *L. plantarum*, uji ketahanan bakteri terhadap asam dan garam empedu adalah 6 sampel isolat bakteri *L. plantarum*. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis proksimat tools, shaker inkubator, vortex, osce, cawan petri dan tabung reaksi. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ransum itik, limbah ekstraksi temulawak, medium agar Natrium dan MRS Broth, isolat bakteri *L. plantarum*, sampel *Salmonella sp.*, sampel *staphylococcus sp.*, larutan HCl 1 N dan larutan oxgall.

Analisis proksimat bahan pakan dan limbah ekstrak temulawak

Penelitian ini diawali dengan pengujian kualitas ransum itik dan limbah ekstrak temulawak menggunakan analisis proksimat. Analisis proksimat yang dilaksanakan meliputi kadar air, kadar abu, kadar lemak kasar, kadar serat kasar dan kadar protein kasar.

Uji Daya Hidup Bakteri *L. Plantarum*

Pengujian daya hidup *L. plantarum* dimulai dari proses inkubasi bakteri dengan mengeluarkan bakteri dari pendingin untuk kemudian dihangatkan pada inkubator dengan suhu ruang yaitu pada suhu 37-41° C. Selanjutnya dilakukan proses pengenceran bakteri dengan cara mencuplik stok bakteri sebanyak 1 mL dan dilarutkan kedalam air steril membentuk sampai dengan seri pengenceran 10⁻³ cfu/ml. Larutan tersebut divortex hingga homogen. Prosedur yang sama dilakukan untuk membuat seri pengenceran sampai dengan 10⁻⁸ cfu/ml. Penambahan limbah ekstraksi temulawak pada sampel yang telah diencerkan dengan 3 perlakuan dan 12 ulangan. Perlakuan yang dilaksanakan dalam penelitian ini adalah:

- | | |
|----|--|
| T1 | : Penambahan 1% limbah ekstraksi temulawak |
| T2 | : Penambahan 2% limbah ekstraksi temulawak |
| T3 | : Penambahan 3% limbah ekstraksi temulawak |

Selanjutnya larutan dengan 10-7 cfu/ml, dan 10-8 cfu/ml masing-masing diambil sebanyak 0,1 ml kemudian diisolasi pada media PCA dengan teknik sebar dan dilakukan secara duplo untuk setiap pengenceran. Biakan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 48 jam. Setelah masa inkubasi, koloni bakteri yang tumbuh pada media PCA dihitung. Koloni bakteri yang tumbuh pada media agardigores dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dan jumlah koloni bakteri yang tumbuh dihitung.

Penghitungan Total Bakteri menggunakan metode Total Plate Count (TPC) yang merupakan metode pendugaan jumlah mikroorganisme secara keseluruhan dari suatu bahan. Analisis TPC menggunakan media Plate Count Agar (PCA) dengan menanam 0,1 ml sampel dari pengenceran ke dalam cawan petri, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang (Nufus, 2016). Hasil penghitungan koloni berupa (cfu) per ml/g. Perhitungan koloni dilakukan pada seri pengenceran 10-6 cfu/ml, 10-7 cfu/ml, dan 10-8 cfu/ml. Perhitungan dilakukan dengan cara mengamati koloni bakteri yang tumbuh dalam wujud titik putih di cawan petri (Damongilala, 2009). Uji daya hidup bakteri *L. plantarum* ditentukan dari jumlah koloni bakteri yang terbentuk.

Uji Tantang Bakteri *L. plantarum*

Sampel pada ujiantang bakteri diambil dari sampel *L. plantarum sp.* dengan banyak bakteri mencapai 2.2×10^8 . Isolat bakteri kandidat probiotik dengan konsentrasi tersebut diinokulasikan kedalam cawan petri berisi bakteri *Staphylococcus sp* dan *Salmonella sp* yang banyak terdapat dalam saluran pencernaan itik. Prosedur pengujiannya dilakukan dengan metode difusi agar. Satu osce kultur bakteri uji masing-masingnya diinokulasikan kedalam media Natrium Broth (NB) 20 ml dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 18 jam sedangkan kultur stok cair *L. plantarum* yang berumur 24 jam diambil 1 ml kemudian dimasukkan kedalam 10 ml MRS broth dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 18 jam. Bakteri *Staphylococcus sp.* dan *Salmonella*

sp. diinokulasikan sebanyak 25 µl kedalam NA (*Nutrient Agar*) secara *pour plate* dan dibiarkan mengeras. Sampel *Lactobacillus plantarum* kemudian ditanamkan pada media agar, kemudian diinkubasi pada 30°C selama 24 jam. Diameter zona bening yang terbentuk disekitar sumuran diukur sebagai zona penghambatan *L. plantarum* terhadap bakteri patogen.

Uji ketahanan *L. plantarum* terhadap garam empedu

Sampel BAL yang digunakan (*L. plantarum sp*) dimasukkan kedalam 50 ml MRS dengan variasi konsentrasi garam empedu 1-6% dengan *shaker incubator* pada 150 rpm untuk masing-masing isolat. Sampel yang ditanam adalah sampel dengan konsentrasi $2,2 \times 10^8$ dengan metode tuang dan inkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam sampai 4 x 24 jam. Pengamatan yang dilakukan adalah dengan metode analisis kualitatif. Kemampuan hidup bakteri dilihat dari ada tidaknya koloni yang tumbuh pada cawan petri yang telah diberi perlakuan pemberian garam empedu pada berbagai konsentrasi (Rashid *et al.*, 2007).

Uji Ketahanan *L. plantarum* terhadap Asam

Kultur stok cair *L. plantarum* yang berumur 24 jam diinokulasikan sebanyak 2 ml kedalam 20 ml MRS broth dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 18 jam. Hal yang sama dilakukan untuk pengujian pH bakteri dengan pH 1.5-6.5 sesuai pada bakteri pada tubuh itik (Zurmiati *et al.*, 2014). Diambil 1 ml kultur dan dimasukkan pada 9 ml MRS broth yang pH sudah diatur menjadi pH 1.5-6.5 dengan HCl 1N dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dengan melakukan teknik penanaman secara *pour plate* pada MRS agar (Analisa kualitatif) (Zavaglia *et al.*, 1998),

Analisis Data

Analisis ragam dilakukan pada parameter daya hidup bakteri *Lactobacillus plantarum*. Parameter yang lain dianalisis menggunakan analisis deskriptif kualitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Proksimat Bahan Pakan dan Prebiotik

Hasil dari analisis proksimat untuk kandungan nutrisi limbah temulawak dan ransum itik Magelang yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan nutrisi limbah temulawak dan ransum Itik Magelang

Bahan pakan	Kadar air	Kadar abu	Lemak kasar	Serat kasar	Protein kasar
 %				
Limbah Temulawak	19,52	4,32	1,36	21,58	7,76
Ransum Itik	8,40	14,19	8,70	25,47	19,39

Ransum itik menunjukkan kualitas pakan yang baik berdasarkan protein kasarnya. Namun, ransum itik ini memiliki serat kasar yang tinggi. Kondisi ransum itik yang tinggi tersebut membutuhkan penambahan probiotik yang dapat memanfaatkan karbohidrat yang tidak tercerna (Mahdavi *et al.*, 2005). Probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *L. plantarum*. Perkembangan *L. plantarum* sebagai probiotik akan lebih terdukung dengan adanya prebiotik. Prebiotik dibutuhkan karena mengandung oligosakarida sebagai sumber nutrisi mikroba (Haryati, 2011). Prebiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah ekstraksi temulawak dari perusahaan jamu. Limbah ekstraksi temulawak selain mengandung oligosakarida juga mengandung curcumin. Curcumin diharapkan dapat membantu mengalokasikan distribusi kolesterol dalam sel epitel saluran reproduksi itik betina.

Uji daya hidup *L. plantarum* dalam limbah temulawak

Tabel 2. Jumlah koloni bakteri *Lactobacillus plantarum* yang terbentuk dalam persentase limbah ekstraksi temulawak yang berbeda

Parameter	Limbah ekstraksi temulawak		
	1%	2%	3%
 x 10 ⁸		
Jumlah Koloni Bakteri	0,8 ^b	2,3 ^a	1,3 ^b

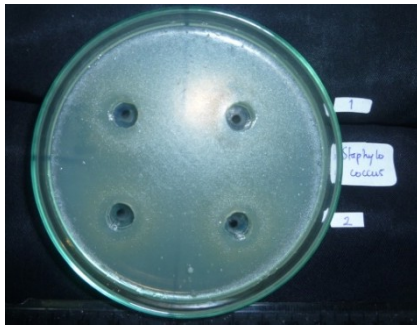
Hasil pengujian daya hidup *L. plantarum* dalam limbah temulawak menggunakan 1%, 2% dan 3% limbah temulawak dapat dilihat pada Tabel 2. Daya hidup *L. Plantarum* ditentukan dengan jumlah koloni yang terbentuk selama 24 jam dalam medium agar.

Hasil dari analisis ragam menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$) untuk jumlah koloni yang terbentuk dalam persentase limbah temulawak yang berbeda. Penambahan limbah temulawak 2% menghasilkan total koloni bakteri yang berbeda nyata dengan persentase 1% dan 3%. Namun, secara umum penambahan limbah temulawak menghasilkan pertumbuhan bakteri yang baik. Hasil ini menunjukkan bahwa probiotik *L. plantarum* dapat disinergikan dengan prebiotik limbah ekstraksi temulawak sehingga dapat disebut sinbiotik. Sinbiotik adalah sinergisme simbiosis antara probiotik dan prebiotik (Hamaslim, 2016).

Uji Tantang Bakteri *L. plantarum*

Hasil dari uji tantang bakteri *L. plantarum* menggunakan *Staphylococcus sp.* dan *Salmonella sp.* dapat dilihat pada Gambar berikut ini.





Gambar 1. Hasil uji tantang bakteri *L. plantarum* dengan *Salmonella sp.* dan *Staphylococcus sp.*

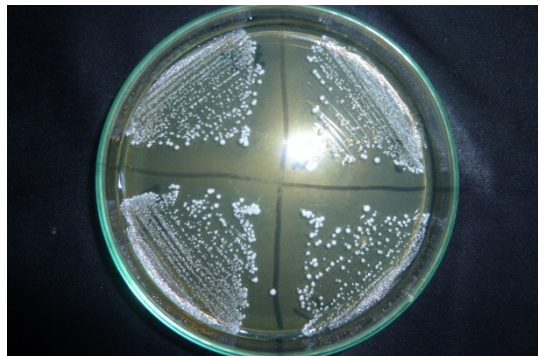
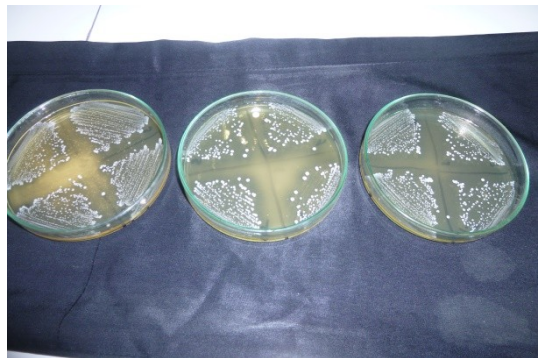
Terlihat pada gambar 1. bakteri dapat tumbuh dan membentuk koloni. Hasil tersebut secara kualitatif menunjukkan bahwa bakteri *L. plantarum* dapat hidup pada keadaan dimana terdapat *Salmonella sp.* dan *Staphylococcus sp.* Unggas sendiri banyak mengandung bakteri pembusuk *Salmonella sp.* dan *Staphylococcus sp.* pada pencernaannya (Gaggia *et al.*, 2010). Dengan demikian bakteri *L. plantarum* tersebut dapat hidup pada itik lokal yang diduga pada saluran pencernaannya mengandung kedua jenis bakteri tersebut.

Pemberian probiotik *L. plantarum* diasumsikan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* dan *Staphylococcus sp.* yang dapat mempercepat proses pembusukan pada pencernaan dan hasil ternak (Setyawardhani *et al.*, 2017). Bakteri *L. plantarum* sering dipakai sebagai probiotik dalam pakan ternak dikarenakan tahan terhadap bakteri pembusuk dalam tubuh unggas (Zurmiati *et al.*, 2014).

Uji Ketahanan Bakteri *L. Plantarum* terhadap pH Asam dan Garam Empedu

Hasil dari uji ketahanan bakteri *L. plantarum* terhadap pH asam dan garam empedu dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil uji pH asam yang dilakukan terhadap bakteri asam laktat *L. plantarum* menunjukkan ketahanan pada pH 1,5 - 6,5. Gambar tersebut memperlihatkan bahwa terbentuk larutan keruh pada berbagai tingkat pH dan suspensi uji bakteri.



Gambar 2. hasil uji ketahanan bakteri *L. plantarum* terhadap pH asam dan garam empedu

Hasil penggoresan bakteri pada cawan petri juga menunjukkan tumbuhnya koloni *L. plantarum* hasil inokulasi pada uji pH asam 1,5-6,5 dan garam empedu 1-6 tersebut. Pertumbuhan diamati dengan

adanya peningkatan turbiditas (kekeruhan) pada sampel. Hasil demikian memperlihatkan bahwa bakteri *L. plantarum* dapat bertahan pada keadaan asam dan dengan berbagai kadar garam empedu di saluran pencernaan. Ketahanan bakteri *L. plantarum* pada pH asam dan garam empedu menunjukkan ketahanannya dalam saluran pencernaan unggas (Teru, 2017).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah *L. plantarum* memiliki sinergitas simbiotik dengan limbah ekstraksi temulawak untuk menyusun sinbiotik rendah kolesterol. *L. plantarum* juga memiliki ketahanan terhadap bakteri *Salmonella sp.* dan *Staphylococcus sp.* pH 1,5-6,5 dan garam empedu 1-6 mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Direktorat Jenderal Pembelajaran dan Kemahasiswaan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia atas dukungannya melalui Program Kreativitas Mahasiswa Penelitian Eksakta tahun 2018. Ucapan terima kasih juga kami berikan kepada Direktorat Kemahasiswaan Universitas Diponegoro atas dukungannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Damongilala, L. J. 2009. Kadar air dan total bakteri pada ikan ROA (*Hemirhamphus sp.*) asap dengan metode pencucian bahan baku berbeda. J. Ilmiah Sains 9 (2): 190-198
- Gaggia, F., P. Mattarelli and B. Biavati. 2010. Probiotic and prebiotics in animal feeding for safe food production. Intl. J. Food Microbiol. 14: 515 – 528.
- Hamasalim, H. J. 2016. Synbiotic as feed additives relating to animal health and performance. Adv. In Microb. 6: 288-302.
- Haryati, T. 2011. Probiotik dan prebiotik sebagai pakan imbuhan nonruminansia. Wartazoa 21(3): 125-132.
- Mahdavi, A. H., H. R. Rahmani and J. Pourreza. 2005. Effect of probiotic supplements on egg quality and laying hen's performance. Int. J. of Poultry Sci. 4 (7): 488-492.
- Nufus, B. N., G. Tresnani dan Faturrahman. 2016. Populasi bakteri normal dan bakteri kitinolitik pada saluran pencernaan lobster pasir (*Panulirus homarus* L.) yang diberi kitosan. J. Biol. Trop. 16 (1): 15-23.
- Putra, S. H. J. dan S. Mansur. 2017. Pengaruh pemberian suplemen serbuk kunyit (*Curcuma longa* L.) terhadap kadar kolesterol hati puyuh Jepang (*Coturnix coturnix japonica* L.). J. Mangif. Edu II (1): 25-31.
- Rashid, M., Alam, S., Khalil and Ayub. 2007. In vitro solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) from maize rhizosphere. Int. J. of Agric. and Biol. (4) : 54-458.
- Sari, E. M. A., E. Suprijatna dan W. Sarengat. 2017. Pengaruh sinbiotik untuk aditif pakan ayam petelur terhadap kandungan kimiawi telur. J. Petern. Ind. 19 (1): 16-22.
- Saty, L., K. Praseno dan Kasiyati. 2014. Kadar kolesterol dan β -karoten telur itik dari beberapa lokasi budidaya itik di Jawa. Buletin Anatomi dan Fisiologi XXII (2): 56-63.
- Teru, V., M. H. Natsir dan E. Widodo. 2017. Pemanfaatan tepung kulit bawang merah (*Allium ascalonium*) sebagai imbuhan pakan terhadap penampilan, profil darah dan kolesterol pada puyuh petelur. JIIP. 27 (3): 76-82.

- Zavaglia, A. G., G. Kociubinski, P. Perez, G. D. Antoni. 1998. Isolation and characterization of bifidobacterium strains of probiotik formulation. J. Food Protect. 61(7) 865-873.
- Zurmiati, M. E. Mahata, M. H. Abbas, Wizna. 2014. Aplikasi Probiotik Untuk Ternak Itik. Jurnal Peternakan Indonesia. 16 (2) : 134-144.