

## Uji Daya Simpan Inokulum dan Ketahanan *Lactobacillus plantarum* terhadap pH Rendah sebagai Agensia *Direct Fed Microbials* untuk Ternak Ruminansia

### *Inoculum Storability Test and Resistance of Lactobacillus plantarum to Low pH as a Direct Fed Microbial Agent for Ruminant Livestock*

H Suryani<sup>1\*</sup>, D T Marya<sup>2</sup>, D M Sinaga<sup>1</sup> dan N A Usman<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Teknologi Pakan Ternak Politeknik Negeri Lampung, Lampung

<sup>2</sup> Program Studi Teknologi Produksi Ternak Politeknik Negeri Lampung, Lampung

\*Email: [henisuryani@polinela.ac.id](mailto:henisuryani@polinela.ac.id)

*Abstract* : Direct Fed microbials (DFM) is a product of non-pathogenic live microorganisms that is beneficial when given to humans or livestock to improve livestock health, feed conversion efficiency and performance by suppressing pathogenic microorganisms in the digestive tract and influencing the balance of intestinal microbes. This study aims to provide information about the potential of *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 as a DFM agent. This study used a descriptive experimental method. Parameters observed included resistance tests to acid pH (5, 3, 2), pH 7 were also tested to determine resistance to neutral pH. The ability of *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 to survive at room temperature with different incubation times (5, 7, 10 days) were also tested to determine the storability of *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 inoculum at room temperature.. The results showed that *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 had resistance to the lowest pH (2) and also survived at neutral pH (7) with a total colony of  $2.25 \times 10^8$  and  $.3 \times 10^7$  CFU mL<sup>-1</sup>, respectively. *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 inoculum can be stored at room temperature for up to 10 days and still has a total colony of  $3.8 \times 10^7$  CFU mL<sup>-1</sup>.

*Keywords*: direct fed microbials, inoculum, *Lactobacillus plantarum*, low pH, storability,

Diterima: 31 Agustus 2023, disetujui 29 September 2023

## PENDAHULUAN

Penggunaan *Direct fed microbials* (DFM) pada ternak ruminansia meningkat dan berkembang sebagai solusi adanya pembatasan penggunaan antibiotika untuk pemeliharaan ternak. Direct fed microbials (DFM) memiliki makna yang berespadanan dengan probiotik yang didefinisikan sebagai produk pakan berisi sumber mikroorganisme hidup menguntungkan dan mempengaruhi induk semang melalui perbaikan keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan (Seo et al., 2010). Pemberian DFM pada ternak ruminansia dapat meningkatkan pencernaan nutrisi, efisiensi pakan, produktivitas, dan pencegahan penyakit ternak (Desnoyers et al. 2009 ; Suryani et al., 2017 ; Astuti et al., 2018). Syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia DFM adalah memiliki resistensi terhadap kondisi asam dan mampu menghasilkan produk akhir antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Allen et al. 2011; Ahmed et al., 2010).

Bakteri asam laktat merupakan salah satu kelompok bakteri yang berpotensi digunakan sebagai DFM. Bakteri asam laktat (BAL) dapat ditemukan pada habitat yang beragam, seperti makanan fermentasi, buah, biji-bijian, saluran pencernaan hewan dan silase. Pada ternak ruminansia, BAL ditemukan dalam rumen berperan dalam fermentasi karbohidrat dan gula untuk menghasilkan asam laktat (Sarfina et al. 2020).



Lisensi :

Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License

Bakteri tersebut dapat berinteraksi dan meningkatkan aktivitas mikroba rumen (Worku, et al., 2016). Bakteri asam laktat yang umum digunakan untuk DFM pada ruminansia antara lain dari genus *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* dan *Enterococcus* sebagai bakteri penghasil laktat (Seo et al. 2010). Pemanfaatan *Lactobacillus plantarum* sebagai DFM semakin berkembang karena kemampuannya dapat menurunkan metanogenesis seperti dilaporkan oleh O'Brien et al. (2013) bahwa penggunaan kultur *Lactobacillus plantarum* dapat menurunkan produksi gas metan total dan meningkatkan proporsi propionat secara in vitro. Selanjutnya, (Astuti et al., 2018) menggunakan isolat *Lactobacillus plantarum* U32 dan U40 yang diisolasi dari cairan rumen terbukti dapat meningkatkan aktifitas fermentasi oleh mikroba dalam rumen dengan meningkatnya asam propionat dan menurunkan produksi gas metan.

Mekanisme *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 sebagai DFM dalam mempengaruhi aktivitas bakteri rumen dan fermentasi rumen belum diketahui pasti dan hasilnya masih beragam. Oleh karena itu, uji ketahanan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 sangat diperlukan untuk mengevaluasi isolat *Lactobacillus plantarum* sebagai agensia DFM untuk ternak ruminansia.

## METODE PENELITIAN

### Experimental Design

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan penulisan secara deskriptif untuk memberikan informasi tentang potensi *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 sebagai agensia DFM.

### Prosedur Penelitian

#### Preparasi kultur

Kultur yang digunakan adalah *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020. Kultur diperoleh dari kultur koleksi Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada. Pembuatan kultur stok dilakukan dengan cara menambahkan skim pada *de Man Rogosa Sharpe* agar (MRS) dihomogenkan dan disimpan dalam stok kultur agar miring dan disimpan pada suhu -4°C.

#### Uji Ketahanan *Lactobacillus plantarum* terhadap pH Rendah

Pengujian dilakukan berdasarkan metode Zavaglia et al. (1998). Kultur stok cair *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 umur 24 jam diinokulasikan sebanyak 1 ml kedalam 10 ml MRS broth dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 18 jam. Selanjutnya, sebanyak 1 ml kultur dimasukkan pada 9 ml MRS broth dengan pH yang telah diatur menjadi 2, 3, dan 4. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan HCl 1N. Kultur ditumbuhkan pada MRS agar dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dengan melakukan teknik penanaman secara pour plate pada MRS agar.

#### Uji Daya Simpan Inokulum *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020

Uji daya simpan DFM *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 dilakukan mengacu pada metode Sunaryanto dkk. (2014). Pembuatan inokulum menggunakan bahan pakan bekatul sebanyak 100 gr ditambah aquades 20 ml dan dihomogenkan. Selanjutnya, bahan disterilisasi selama 15 menit menggunakan autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Inokulasikan kultur *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 umur 24 jam sebanyak 5 ml pada inokulum yang telah didinginkan. Kemudian, inkubasi pada suhu ruang selama 5, 7 dan 10 hari.

Perhitungan total koloni menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Sebanyak 1 gr inokulum dari masing – masing lama penyimpanan dicampur dengan 9 mL NaCl 0,85 % dihomogenkan, lalu dibuat seri pengenceran dari 10<sup>-1</sup> sampai 10<sup>-8</sup>. Inokulasikan masing-masing 1 mL dari tiga pengenceran terakhir pada

MRSA dengan metode *surface plate count* secara duplo. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dan hitung total koloni yang tumbuh.

### Analisis Data

Data hasil penelitian ini dilakukan metode analisis deskriptif kualitatif dan data yang diperoleh diinterpretasikan sesuai hasil pengamatan, yaitu data potensi *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 sebagai agensia DFM untuk ternak ruminansia berdasarkan ketahanannya terhadap pH rendah dan lama penyimpanan inokulum.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Ketahanan *Lactobacillus plantarum* terhadap pH Rendah

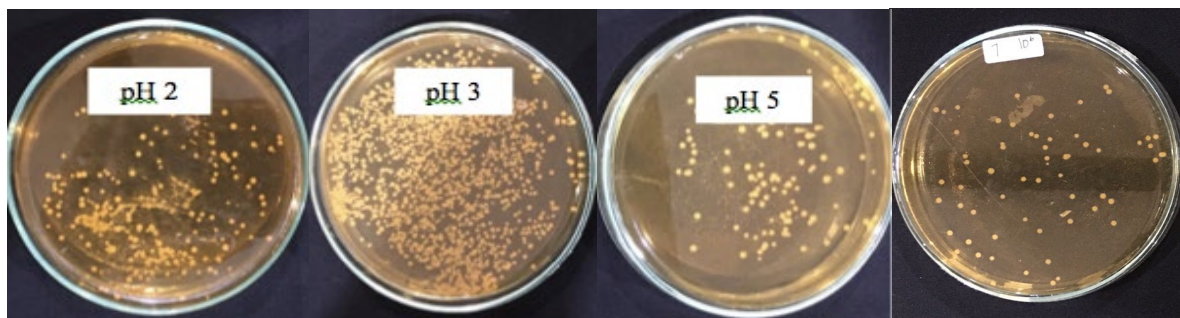
Faktor pH menjadi salah satu syarat penentu produk DFM. Bakteri DFM harus memiliki kemampuan tahan terhadap pH rendah. Syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia DFM adalah memiliki resistensi terhadap asam (Allen et al. 2011). Uji ketahanan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 terhadap pH rendah dilakukan untuk mengetahui jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 yang bertahan pada pH rendah. Jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 pada berbagai variasi pH dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 pada berbagai variasi pH

pH	2	3	5	7
<i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 0020 (CFU mL-1)	$2.25 \times 10^8$	$2.18 \times 10^9$	$5.6 \times 10^7$	$1.3 \times 10^7$

Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin rendah nilai pH jumlah koloni yang dihasilkan semakin tinggi. Dalam keadaan asam *Lactobacillus* mampu mempertahankan kadar keasaman sitoplasmanya sehingga enzim dan protein di dalam sel tetap dapat bekerja secara optimal. Karakter ini yang menyebabkan *Lactobacillus* sangat ideal sebagai DFM saluran pencernaan. Stabilitas pH *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 pada kisaran pH yang luas penting kaitannya dengan penerapan produk DFM yang dihasilkan sebelum dikembangkan sebagai produk komersil. Jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 yang dihasilkan dari penelitian ini masih mampu bertahan pada pH 2, 3, 5 dan 7 sehingga cocok digunakan sebagai agensia DFM. Hal ini, karena syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia DFM adalah memiliki resistensi terhadap asam sehingga dapat mencapai intestin dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestin (Allen et al. 2011). Suatu strain bakteri DFM harus mampu mempertahankan jumlah koloninya saat melewati saluran gastrointestinal yang kondisinya sangat asam menuju usus besar (Kong dan Singh, 2008). Pada ternak ruminansia, pemilihan bakteri DFM penting untuk memperhatikan pH sepanjang saluran pencernaannya, hal ini karena ruminansia memiliki berbagai variasi pH yaitu Retikulumen memiliki pH 5,3-6,5; abomasum pH 2,2-4,1; dan usus dengan pH 5,6-6,8 (Bergmann, 2017).

Gambar 1 menunjukkan jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 memiliki pertumbuhan yang baik pada pH 2, 3, dan 5 setelah diinkubasi selama 24 jam, sedangkan jumlah koloni pada pH 7 memiliki jumlah yang lebih sedikit dibandingkan dengan pH asam. Namun, *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 masih dapat berkembang pada pH 7. Hasil ini mengindikasikan bahwa *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 dapat berkembang di pH rumen dan juga intestine ruminansia. Pengaruh nilai pH terhadap perkembangan bakteri rumen ini berkaitan dengan aktivitas enzim yang dihasilkan. Enzim dibutuhkan oleh bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Jika, pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal, maka akan mengganggu kerja enzim-enzim dan akan mempengaruhi proses pencernaan pakan secara keseluruhan.



Gambar 1 Hasil pengamatan jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 pada pH 2, 3, 5 dan 7 secara berturut turut

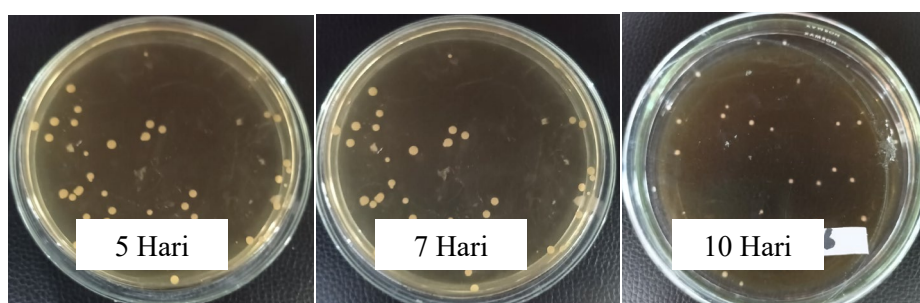
#### Uji Daya Simpan *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020

Jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 pada berbagai variasi lama penyimpanan inokulum dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 pada berbagai variasi lama penyimpanan inokulum

Lama penyimpanan inokulum (hari)	5	7	10
<i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 0020 (CFU mL <sup>-1</sup> )	2.25 x 10 <sup>8</sup>	4,45 x 10 <sup>7</sup>	3,8 x 10 <sup>6</sup>

Tabel 2. Menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan inokulum *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020, jumlah koloni mengalami penurunan. Konsentrasi inokulum secara signifikan mempengaruhi produksi biosurfaktan karena bioproses bergantung pada kepadatan sel dan pertumbuhan biomassa (Kanwal., et al 2023). Menurunnya jumlah koloni diduga disebabkan karena konsentrasi inokulum mikroorganisme yang tinggi meningkatkan pertumbuhan tetapi sampai batas tertentu dan setelah batas tersebut, aktivitas mikroba menurun karena terganggunya ketersediaan nutrisi dalam media, sedangkan inokulum yang lebih rendah mengurangi konsentrasi sel sehingga mengurangi jumlah bioproduk juga. Konsentrasi sel yang lebih rendah membutuhkan waktu yang lama untuk mencapai pertumbuhan yang optimal. Pengamatan total koloni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 pada berbagai variasi lama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 pada variasi penyimpanan 5, 7 dan 10 hari

Penyimpanan inokulum memiliki peranan penting dalam proses seleksi mikroorganisme sebagai DFM. Salah satu syarat strain bakteri sebagai DFM adalah dapat diproduksi dalam skala besar, tetap hidup dan tahan selama proses produksi dan penyimpanan (Lick et al., 2001). Inokulum mempunyai peran penting dalam pretreatment biologis karena waktu yang diperlukan untuk kolonisasi substrat jelas dipengaruhi oleh

jenis dan jumlah inokulum. Konsentrasi inokulum yang memadai harus ditentukan untuk memastikan pertumbuhan bakteri dan kolonisasi substrat yang baik (Lhu-Chau et al., 2019).

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

*Lactobacillus plantarum* FNCC 0020 yang diuji kemampuannya sebagai agensia DFM untuk ternak ruminansia memiliki ketahanan pada kondisi asam sampai pada pH 2 dan masih aktif dalam suhu ruang dengan jangka waktu penyimpanan 10 hari.

Perlu dilakukan uji lanjutan aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen, kemampuan bertahan pada garam bile, daya simpan inokulum dalam jangka waktu yang lebih lama dan uji lanjut in vitro menggunakan cairan rumen ternak ruminansia.

## **UCAPAN TERIMAKASIH**

Kegiatan peneliti ini merupakan bagian skema penelitian dosen pemula yang dibiayai oleh DIPA Politeknik Negeri Lampung sesuai dengan Surat Penjanjian Pelaksanaan Penelitian Bagi Dosen Perguruan Tinggi Dana DIPA Politeknik Negeri Lampung<sup>[1]</sup>Tahun Anggaran 2023<sup>[1]</sup>Nomor: 208.17/PL15.8/PP/2023 .

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Ahmed Z, Wang Y, Cheng Q, Imran I. 2010. *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin, from production to their application: an overview. *Afr J Biotechnol* 9:2843-2850 .
- Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, Dans LF .2011.*Probiotics for Treating Acute Infectious Diarrhoea*. John Wiley & Sons Ltd. UK.
- Astuti, D. Wulansih., Komang G. W., Elizabeth. W, Yantyati. W, Sri. S and Roni, R. 2018. Effect of selected *Lactobacillus plantarum* as probiotic on in vitro ruminal fermentation and microbial population. *Pakistan Journal of Nutrition* 17 (3) : 131-139. [10.3923/pjn.2018.131.139](https://doi.org/10.3923/pjn.2018.131.139)
- Bergmann, G,T. 2017. Microbial community composition along the digestive tract in forage- and grain-fed bison. *Bergmann BMC Veterinary Research* (2017) 13:253 DOI <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1161-x>
- Desnoyers, M., S. Giger-Reverdin, G. Bertin, C. Duvaux-Ponter and D. Sauvant. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminant. *J. Dairy. Sci.*, 92: 1620-1632
- Kanwal, M., A.G. Wattoo, R.A.Khushnood, A. Liaqat, R. Iqbal, Zh. Song . 2023. Chapter 12 - Advancements and challenges in production of biosurfactants : Application of Next Generation Biosurfactans in the Food Sector Academic Press.. Page 239-259. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824283-4.00019-8>.
- Kong, F and [R.P. Singh](#). 2008. A Model Stomach System to Investigate Disintegration Kinetics of Solid Foods during Gastric Digestion. *Journal of food science*. 73 (5) : E202-E210. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00745.x>

- Suryani et al : Uji Daya Simpan Inokulum dan Ketahanan *Lactobacillus plantarum* terhadap pH Rendah sebagai Agensia Direct Fed Microbials untuk Ternak Ruminansia /Peterpan 5 (2): 82–87
- Lick, S., K. Drescher and K.J. Heller. 2001. Survival of *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in the Terminal Ileum of Fistulated Gottingen Minipigs. *Appl. Environ. Microbiol.* 67 : 4137-4143
- Lu-Chau, T, A., M. G. Torreiro, M. L. Alberairas, N. A. G. Vanegas, B. Gullon, J. M. Lema, G. Eibes . Chapter 14 - Application of Fungal Pretreatment in the Production of Ethanol From Crop Residues. *Bioethanol Production from Food Crops.ustainable Sources, Interventions, and Challenges*, Academic Press : Pages 267-292. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813766-6.00014-X>
- O'Brien, M., T. Hashimoto, A. Senda, T. Nishida and J. Takahashi, 2013. The impact of *Lactobacillus plantarum* TUA1490L supernatant on *in vitro* rumen methanogenesis and fermentation. *Anaerobe*, 22: 137-140. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.06.003>
- Sarfina, NP., A. Budiman., dan T. Dhalika. 2020. Pengaruh pemberian molases pada ensilase campuran kulit nenas dan tongkol jagung terhadap nilai pH dan konsentrasi asam laktat. *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis dan Ilmu Pakan.* 2(3):175 – 182.
- Seo, J,K., S. W. Kim, M. H.Kim, S, Upadhaya, D, K, Kum. 2010. Direct-fed Microbials for Ruminant Animals. *sian-Aust. J. Anim. Sci.*Vol. 23, No. 12 : 1657 – 1667. <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2010.r.08>.
- Sunaryanto, R., E. Martius, B, Marwoto. 2014. Uji kemampuan *Lactobacillus casei* sebagai agensia probiotik. *J. Bioteknologi dan Biosains Indonesia.* 1 (1) : 9 - 14
- Suryani, H., M. Zain., R.W.S.Ningrat, N. Jamarun. 2017. Effect Dietary Supplementation Based on Ammoniated Palm Frond with Direct Fed Microbials and Virgin Coconut Oil on the Performance and Methane Production of Bali Cattle. *Pakistan Journal of Nutrition.* Vol. 16 (8): 599-604.
- Worku M., Adjei-Fremah S, Ekwemalor K, Asiamah E, Ismail H. 2016. 0120 Growth and transcriptional profile analisys following oral probiotic supplementation in dairy cows. *Journal of Animal Science.* 94 : 61.
- Zavaglia AG, Kociubinski G, Perez P, Antoni GD. 1998. Isolation and Characterization of Bifidobacterium Strains of Probiotik formulation. *J. Food Protect.* 61(7) 865-873.