

**PENELITIAN SUMBERDAYA PERTANIAN DAN PANGAN (T.U. 01.6306)**  
**B. PENGEMBANGAN TEKNOLOGI PRODUKSI PROBIOTIK**

**Y. Widyastuti, S. Ratnakomala, E. Sofarianawati, Yusrina, N. Y. A. Sari,  
J. Rachmat, Kurniawan, Amiruddin, M. Atu, M. Yahya, Suparman, Udin,  
Diman**

**ABSTRAK**

Sebanyak 56 isolat bakteri asam laktat (BAL) dari rumen dan faeces telah sesuai dengan karakter BAL dan diketahui pertumbuhan optimumnya pada umur 18 jam, pH medium 6,2 dan temperatur 38°C. Dari isolat terpilih dipakai sebagai inokulum pada fermentasi skala 50, 100, 200 dan 400 ml produksi biomasa selnya sekitar 4 mg/ml, tetapi produksi biomasa sel pada skala yang lebih besar belum berhasil. Dari 'training' yang dilakukan terhadap beberapa isolat BAL, pada transfer pertama menurunkan pH sampai 5,9 dan meningkatkan laktat sekitar 0,8 mg/ml. Hasil percobaan *in vitro* menunjukkan penurunan pH yang bervariasi (5,3 sampai 6,5). Inokulasi isolat BAL menurunkan jumlah bakteri di dalam rumen, tetapi meningkatkan konsentrasi semua komponen VFA.

**KATA KUNCI:** Probiotik, rumen, bakteri asam laktat, biomasa sel.

**PENDAHULUAN**

Kesehatan ternak merupakan faktor utama untuk menjamin kelangsungan produktivitas ternak. Gangguan kesehatan dapat mengakibatkan turunnya produktivitas yang secara langsung akan menyebabkan kerugian. Pada ruminansia, sapi khususnya, pencegahan terhadap diare dapat dilakukan dengan jalan memberikan pakan tambahan berupa probiotik.

Probiotik adalah kultur mikroba hidup yang berperan dalam hal menjaga keseimbangan mikroorganisma dalam saluran pencernaan dengan jalan mencegah tumbuhnya mikroorganisma yang patogen. Peran probiotik terhadap ruminansia meliputi mencegah diare, meningkatkan laju pertumbuhan mikroorganisma rumen dan merangsang fermentasi pada ternak dewasa (Wallace dan Newbold, 1992). Hal ini secara langsung akan meningkatkan produktivitas ternak.

Probiotik mengandung berbagai kultur mikroba hidup, seperti bakteri, fungi dan khamir. Beberapa produk menggunakan bakteri asam laktat sebagai bahan bakunya, dengan alasan bahwa bakteri asam laktat sudah lama diketahui aman untuk dikonsumsi. Berbagai “review” tentang probiotik dari bakteri asam laktat yang ada bersumber pada hasil penelitian yang seluruhnya dari negara “temperate”. Untuk kondisi tropis seperti di Indonesia dan dalam rangka program peningkatan produktivitas ternak perlu dikembangkan produksi probiotik yang sesuai. Dalam rangkaian kegiatan penelitian untuk penguasaan teknologi produksi probiotik penelitian yang dikerjakan dapat dibagi dalam 2 aspek yang meliputi produksi biomasa sel dan analisis produk. Pada bagian pertama dipelajari berbagai aspek yang menyangkut pertumbuhan isolat untuk mendapatkan biomasa sel yang optimum. Sedangkan pada bagian yang kedua, walaupun masih dalam taraf isolat, uji ketahanan hidupnya pada lingkungan rumen juga dipelajari. Pada awal penelitian dipelajari sifat-sifat fisiologis daripada mikroba referensi.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### BAHAN:

1. Bakteri asam laktat (BAL) referensi yang terdiri dari *Lactobacillus plantarum* 0020, *L. acidophilus* 0116 dan *Lactococcus lactis* 0086 yang diperoleh dari FNCC, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
2. Isolat BAL rumen, hasil isolasi dari rumen dan kotoran pada sapi, domba, kambing dan kerbau.

## CARA KERJA:

### I. Bakteri asam laktat (BAL) referensi

#### I.1. Penentuan kurva pertumbuhan BAL referensi

Pertumbuhan 3 BAL referensi diamati pada 2 jenis medium yaitu GYP dan MRS dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm.

#### I.2. Produksi biomasa sel BAL referensi

Untuk mengetahui kondisi yang optimum untuk produksi biomasa dilakukan penentuan produksi biomasa 3 BAL referensi pada medium MRS yang ditentukan berdasarkan:

##### a. waktu inkubasi

Inkubasi dilakukan pada temperatur  $30^{\circ}\text{C}$  selama 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 dan 24 jam.

##### b. pH

pH yang dicoba adalah 4; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0; 8,5 dan 9,0.

##### c. temperatur

Inkubasi dilakukan pada berbagai temperatur yaitu  $25^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $38^{\circ}\text{C}$ ,  $40^{\circ}\text{C}$  dan  $45^{\circ}\text{C}$ .

Pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm.

#### I.3. Penentuan sumber karbon untuk pertumbuhan BAL referensi

Untuk menentukan sumber karbon untuk pertumbuhan BAL referensi dipakai beberapa sumber karbon yang meliputi glukosa, manosa, maltosa, fruktosa, laktosa, inulin, sorbitol, manitol, selobiosa dan sukrosa. Inkubasi dilakukan pada  $30^{\circ}\text{C}$  selama 18 jam. Pertumbuhan diamati pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 660 nm. Bahan-bahan penyusun MRS digantikan seluruhnya dengan bahan teknis.

#### I.4. Media

Medium MRS (Oxoid) mengandung (g/l) pepton 10,5; 'lab-lemco powder' 8,0; ekstrak ragi 4,0; glukosa 20,0; 'tween' 80 1ml;  $K_2HPO_4$  2,0; natrium asetat. $3H_2O$  5,0; tri amonium sitrat 2,0;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,2 dan  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  0,05.

Medium GYP mengandung (%) glukosa 1,0; ekstrak ragi 1,0; pepton 0,5; natrium asetat 0,1; larutan 'tween' 80 0,5 (tween 80 50 mg/ml) dan larutan garam B 0,5 ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) 40 mg/ml,  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  2 mg/ml,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  2 mg/ml, NaCl 2 mg/ml dan HCl pekat 1 tetes.

## II. Isolat bakteri asam laktat (BAL) rumen

### II.1. Isolasi BAL dari rumen

BAL diisolasi dari sampel rumen sapi, domba dan kerbau yang berfistula. Sampel rumen kerbau NTT diperoleh dari rumah potong hewan (RPH). Sampel kotoran yang masih segar diperoleh dari sapi, kambing dan domba. Medium yang dipakai adalah MRS yang ditambahkan 1 %  $CaCO_3$ . Inkubasi dilakukan pada  $38^\circ$  baik dalam suasana anaerob maupun aerob.

### II.2. Konfirmasi BAL

Konfirmasi BAL yang dilakukan meliputi uji katalase dan pewarnaan Gram. Reaksi katalase diamati setelah penambahan  $H_2O_2$  diikuti dengan  $NaN_3$  apabila diperlukan. Pewarnaan Gram dilakukan dengan pemberian berturut-turut larutan crystal violet, lugol, ethanol dan safranin. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop.

### II.3. Uji tipe fermentasi isolat BAL

Tipe fermentasi isolat BAL ditentukan berdasarkan perbandingan laktat dan etanol yang dihasilkan. Etanol (E) dihitung berdasarkan prosedur kit untuk etanol (Boehringer & Mannheim GmbH 176290) dan laktat dihitung berdasarkan rumus :  $9 \times \text{vol titrasi} \times \text{faktor} \times 1/\text{vol medium}$ . Larutan titrasi

adalah 0,1 N NaOH. Fermentasi homolaktat ditentukan oleh nilai  $0 < E/L < 0,05$ , sedangkan heterolaktat adalah  $0,30 < E/L < 0,51$ .

#### II.4. Uji pertumbuhan isolat BAL

##### a. Waktu inkubasi

Untuk mendapatkan kurva pertumbuhan dilakukan pengamatan pada jam-jam tertentu selama inkubasi.

##### b. pH

Berbagai pH medium yaitu 6,2; 6,5; 6,8; 7,0 dan 7,3 dibuat untuk pengamatan pertumbuhan isolat BAL.

##### c. Temperatur

Temperatur untuk pertumbuhan yang diamati adalah 15°C, 30°C, 38°C, 45°C dan 48°C.

Pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm.

#### II.5. Produksi biomasa sel isolat BAL

Produksi biomasa sel dicoba pada berbagai volume medium MRS teknis, yaitu 50, 100, 200 dan 400 ml pada kondisi baik aerob maupun anaerob pada inkubator 38°C dengan penggoyangan pada 150 rpm selama 18 jam. Penggantian skala dilakukan pada volume kerja sebanyak 3 l dan 5 l, masing-masing dengan kondisi anaerob dan aerob.

#### II.6. Adaptasi isolat BAL dan uji ketahanan hidupnya pada kondisi rumen

Untuk membuat isolat BAL dapat beradaptasi pada lingkungan rumen, dilakukan transfer yang sinambung pada medium M8 dengan kondisi anaerob setiap 3-4 hari. Uji ketahanan pada saluran pencernaan dilakukan dengan jalan inkubasi pada medium MRS yang ditambahkan ox bile sebesar 3 %. Pengamatan ketahanan hidup isolat BAL pada kondisi rumen dilakukan secara *in vitro*. Rumen sapi diperoleh dari RPH dan perbandingannya dengan larutan buffer adalah 1:1 untuk volume akhir sebesar 10 ml. Inkubasi pada 38°C dilakukan selama 96 jam dalam kondisi anaerob. Pengamatan

pada akhir fermentasi meliputi pH, laktat, jumlah bakteri selulolitik dan jumlah bakteri seluruhnya. Hasil fermentasi berupa VFA (volatile fatty acid) diukur dengan menggunakan gas kromatografi dengan kolom FFAP.

## II.7. Karakterisasi isolat BAL

Karakterisasi awal untuk pengelompokkan isolat BAL dilakukan dengan melihat pola pita protein selnya dengan elektroforesis, SDS-PAGE. Uji fisiologi yang dilakukan meliputi pertumbuhan pada pH 3,5; 4,5; 5,5; 6,5; 7; 8; dan 9, temperatur 37 dan 45°C. Konsentrasi Na Cl yang ditambahkan pada medium MRS adalah 4, 6,5 dan 10 %.

## II.8. Pemberian isolat BAL pada anak sapi dan domba

Sebanyak 10 ml medium yang mengandung isolat TSD-3 diberikan pada tiap ekor anak sapi dan domba yang baru lahir. Pemberiannya dalam jangka tidak lebih dari 24 jam setelah lahir. Penimbangan dilakukan saat lahir dan selanjutnya tiap 5 hari.

# HASIL DAN PEMBAHASAN

## I. BAL referensi.

Pemilihan 3 jenis BAL yang dipakai untuk referensi pada penelitian ini mengacu pada Wallace dan Newbold (1992) yang telah mengumpulkan informasi dari berbagai sumber. Kurva pertumbuhan daripada BAL referensi disajikan pada Gambar 1. Sesuai dengan komposisi mediumnya pertumbuhan pada MRS menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dibanding GYP. Untuk selanjutnya pada penelitian ini dipakai medium MRS.

Produksi biomasa BAL referensi ditinjau dari waktu inkubasi, pH dan temperatur dapat dilihat masing-masing pada Gambar 2a, 2b dan 2c. Sesuai dengan kurva pertumbuhannya, produksi biomasa sel meningkat mulai sekitar 18 jam inkubasi. *L. plantarum* menunjukkan produksi biomasa sel yang cukup tinggi mulai pada pH 6,0 dan seterusnya, tetapi *L. acidophilus* dan *L. lactis*

mencapainya pada pH 7,5. Temperatur optimum untuk produksi biomasa sel tertinggi dicapai pada 30<sup>0</sup>C

Pada Gambar 3 terlihat bahwa untuk penggantian sumber karbon pada komposisi medium MRS masih tetap glukosa yang paling baik untuk pertumbuhan BAL. Walaupun fruktosa memperlihatkan pertumbuhan ketiga BAL referensi yang hampir sama dengan glukosa, untuk penelitian selanjutnya dipakai glukosa pada komposisi MRS teknis.

## II. Isolat BAL rumen.

Persiapan inokulum merupakan langkah pertama untuk pengembangan produksi probiotik. Disebutkan bahwa untuk mendapat pengaruh yang nyata pada waktu aplikasi probiotik ke ternak, asal daripada isolat merupakan hal yang utama. Agar terjadi pengaruh yang nyata pada rumen, isolat untuk probiotik harus pula berasal dari rumen (Havenaar, *et al.*, 1992). Dari isolasi yang telah dilakukan diperoleh 56 isolat (Tabel 1) . Isolat berasal dari baik rumen maupun faeces (kotoran) dari berbagai ternak yang meliputi sapi, kambing, kerbau dan domba.

Tabel 1. Daftar isolat BAL

No	kode isolat	asal	reaksi Gram	reaksi katalase	morfologi sel	tipe fermentasi
1.	TSD-2	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
2.	TSD-3	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
3.	TSD-4	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
4.	TSD-5	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
5.	TSD-6	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
6.	TSD-7	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
7.	TSD-8	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
8.	TSD-9	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
9.	TSD-10	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
10.	TSD-11	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
11.	TSD-12	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
12.	TSD-13	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
13.	RSD-1	rumen sapi	+	-	basil	homolaktat
14.	RSD-3	rumen sapi	+	-	basil	homolaktat
15.	RSD-4	rumen sapi	+	-	basil	homolaktat

16.	RSD-5	rumen sapi	+	-	basil	homolaktat
17.	TK-1	faeces kambing	+	-	basil	homolaktat
18.	TK-2	faeces kambing	+	-	basil	homolaktat
19.	TK-3	faeces kambing	+	-	basil	homolaktat
20.	TS	faeces sapi	+	-	basil	homolaktat
21.	RKeD-3	rumen kerbau	+	-	basil	homolaktat
22.	RKeNTT-1	rumen kerbau	+	-	basil	homolaktat
23.	RD-1	rumen domba	+	-	basil	homolaktat
24.	RD-2	rumen domba	+	-	basil	homolaktat
25.	D-2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
26.	D-3	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
27.	D-6.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
28.	D-6.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
29.	D-6.3	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
30.	D-9.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
31.	D-9.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
32.	D-10.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
33.	D-10.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
34.	D-11.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
35.	D-11.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
36.	D-12.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
37.	D-12.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
38.	D-12.3	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
39.	D-13.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
40.	D-13.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
41.	D-15	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
42.	D-16.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
43.	D-16.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
44.	D-19.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
45.	D-19.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
46.	D-25	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
47.	D-35.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
48.	D-35.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
49.	D-35.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
50.	D-44.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
51.	D-44.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
52.	D-45	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
53.	D-46.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
54.	D-46.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
55.	D-48.1	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat
56.	D-48.2	rumen domba	+	-	kokus	homolaktat



Konfirmasi BAL selain dilihat dari reaksi pewarnaan Gram positif dan katalase negatif, juga dilihat dari produksi asam yang terlihat sebagai zona terang pada medium yang mengandung 1%  $\text{CaCO}_3$ . Semua isolat dapat tumbuh baik pada kondisi aerob maupun anaerob. Semuanya mempunyai tipe fermentasi homolaktat. Pertumbuhan yang optimum dari beberapa isolat (isolasi aerob) dicapai pada waktu inkubasi 18 jam, pH 6,2 dan temperatur  $38^\circ\text{C}$  (Gambar 4). Pada akhir inkubasi pH mencapai sekitar 3,6 dan konsentrasi laktat sekitar 11mg/ml. Variasi pola pita protein sel dapat dilihat pada Gambar 5 yang dapat membantu untuk mengelompokkan isolat BAL menjadi beberapa kelompok berdasarkan persamaan pola pita pada gel tersebut. Dari kelompok isolat yang selnya berbentuk kokus, hasil pengujian pertumbuhannya pada berbagai pH bervariasi. Semua isolat menunjukkan kemampuan tumbuh pada temperatur 37 dan  $45^\circ\text{C}$ , tetapi pada medium yang mengandung NaCl tampak kemampuan tumbuh yang bervariasi.

Pemilihan inokulum didasarkan pada kandungan laktatnya yang tinggi dan pertumbuhannya yang baik pada medium MRS dan MRS yang ditambahkan "ox bile". Isolat terpilih menunjukkan nilai OD sebesar 1,59 dan 1,58 pada MRS dan 1,37 dan 1,40 pada MRS yang mengandung "ox bile" masing-masing untuk TSD-10 dan RD-2. Produksi biomasa sel kedua isolat tersebut, pada berbagai volume medium, OD yang dicapai, pH akhir dan produksi laktatnya disajikan pada Tabel 2. Dari inkubasi secara aerob dan anaerob menunjukkan bahwa isolat BAL menghasilkan biomasa sel yang hampir sama, sehingga untuk selanjutnya lebih baik dilakukan secara aerob. Dari hasil yang diperoleh masih perlu upaya peningkatan hasil biomasa sel, misalnya dengan meningkatkan konsentrasi inokulum menjadi 10 % (v/v). Disamping itu, kecepatan penggoyangan perlu ditinjau kembali. Untuk volume medium yang lebih besar kecepatan penggoyangan harus ditingkatkan.

Penggandaan skala dengan menggunakan volume kerja sebanyak 3 l telah dilakukan, tetapi inokulum mati setelah beberapa jam fermentasi. Hal ini

kemungkinan disebabkan oleh pasokan karbon dioksida yang kurang memadai, sehingga tidak dapat mempertahankan kondisi anaerob. Di samping juga upaya mempertahankan pH medium yang tinggi tampaknya membuat pertumbuhan isolat yang tidak alami. Dengan menggunakan fermentor kapasitas 10 l telah dilakukan pula fermentasi dengan volume kerja sebanyak 5 l pada kondisi aerob. Hasil yang diperoleh menunjukkan biomasa sel yang lebih kecil dibanding pada skala labu kocok. Biomasa sel yang telah dikering bekukan sebesar 7,30 g per 5 l. Hasil ini setara dengan 1,46 mg /ml. Beberapa permasalahan pada fermentasi di fermentor masih harus dipecahkan, seperti pengadukan, waktu inkubasi dan pasokan oksigen.

Tabel 2. Produksi biomasa sel isolat BAL terpilih.

Isolat	Volume medium (ml)	OD	pH	laktat (mg/ml)	Biomasa sel (mg/ml)
TSD-10	50	1,59	3,47	12,98	3,87
	100	1,63	3,44	12,32	3,95
	200	1,63	3,42	13,64	3,91
	400	1,66	3,41	12,98	-
RD-2	50	1,58	3,40	12,54	3,23
	100	1,59	3,43	12,32	4,27
	200	1,62	3,44	12,76	4,05
	400	1,65	3,35	12,89	4,17

Kultur mikroba untuk probiotik harus memenuhi beberapa syarat, salah satu di antaranya adalah harus bertahan hidup sampai saluran pencernaan. Pada pembuatan "yakult" dilakukan "training" terhadap *Lactobacillus casei* dengan jalan mengadaptasikannya pada pH rendah. Pada penelitian ini selain dilakukan uji pertumbuhan pada medium MRS yang mengandung "ox bile", dilakukan juga "training" dengan cara memindahkan isolat pada medium M8 secara sinambung. Medium M8 adalah medium selektif untuk bakteri rumen (pH 6,8). Diharapkan isolat BAL akan beradaptasi pada medium tersebut. Penurunan pH tampak terjadi pada transfer yang pertama, mencapai sekitar 5,9. Selanjutnya, walaupun terjadi penurunan tidak sebesar pada transfer yang pertama. Konsentrasi laktat meningkat terutama dari transfer pertama ke transfer kedua (dari sekitar 0,6 mg/ml ke 1,4 mg/ml). Selanjutnya peningkatan konsentrasi laktat tidak begitu besar. Jumlah koloni pada transfer ketujuh dibandingkan dengan inokulumnya tampak menurun seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah koloni beberapa isolat BAL

No	isolat	Inokulum (CFU/ml)	transfer ketujuh (CFU/ml)
1.	TK-1	$3,0 \times 10^{10}$	$1,2 \times 10^9$
2.	TK-2	$1,8 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$
3.	TSD-2	$2,1 \times 10^9$	$3,5 \times 10^9$
4.	TSD-3	$3,6 \times 10^9$	$1,1 \times 10^9$
5.	TSD-4	$1,0 \times 10^{10}$	$1,3 \times 10^9$

Dari percobaan *in vitro* yang telah dua kali dilakukan, hasilnya disajikan pada Tabel 4 dan 5. pH pada awal inkubasi dari medium yang terdiri dari cairan rumen: larutan buffer (1 :1) sebesar 6,7. Pada akhir inkubasi pH menurun seperti pada Tabel 4. Pada kontrol terjadi penurunan pH karena adanya fermentasi jerami padi yang ditambahkan pada medium. Adanya isolat BAL tampaknya menghambat penurunan pH.

Tabel 4. pH setelah inkubasi

	I	II	III
Kontrol	5,28	6,48	6,49
TK-1	5,38	6,62	6,55
TSD-3	5,29	6,55	6,60
Kontrol	6,45	6,40	6,60
TSD-10	6,49	6,31	6,52
RD-2	6,50	6,33	6,43

Pengaruh isolat BAL terhadap populasi bakteri di dalam rumen disajikan pada Tabel 5. Jumlah bakteri pada rumen yang terdiri dari bakteri sam laktat, total bakteri dan bakteri selulolitik dihitung sebelum dilakukan inkubasi. Setelah inkubasi jumlah bakteri tersebut dihitung dari medium yang terdiri dari campuran rumen dan buffer, yang dipakai sebagai kontrol. Secara umum tampak terjadi penurunan jumlah semua bakteri pada akhir inkubasi. BAL disebutkan viabilitasnya cepat menurun selama penyimpanan, tetapi dalam hal menurunkan jumlah bakteri di dalam rumen masih perlu dikaji lebih jauh.

Tabel 5. Populasi BAL, bakteri rumen dan bakteri selulolitik pada percobaan in vitro.

	Jumlah bakteri (cfu/ml)					
	Asam laktat		Total		Selulolitik	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
Rumen	$3,5 \times 10^{10}$		$1,4 \times 10^{10}$		$4,2 \times 10^6$	
TK-1	$5,6 \times 10^9$	$3,0 \times 10^8$		$6,2 \times 10^8$		$1,8 \times 10^7$
TSD-3	$1,7 \times 10^9$	$3,7 \times 10^8$		$1,7 \times 10^8$		$1,8 \times 10^7$
Kontrol				$5,7 \times 10^8$		$2,7 \times 10^7$
Rumen	$1,8 \times 10^8$		$6,4 \times 10^9$			
TSD-10	$1,6 \times 10^8$	$2,0 \times 10^7$		$9,9 \times 10^7$		
RD-2	$7,2 \times 10^9$	$2,9 \times 10^9$		$3,1 \times 10^8$		
Kontrol		$6,1 \times 10^9$		$2,3 \times 10^9$		

Hasil pengukuran konsentrasi VFA (Tabel 6) tampak semua komponen VFA lebih tinggi konsentrasi kontrol pada medium yang ditambahkan isolat BAL. Hal ini memberikan indikasi bahwa isolat BAL merangsang pembentukan semua komponen VFA, tetapi peningkatan tertinggi terjadi pada asetat.

Tabel 6. Konsentrasi VFA (ng/ $\mu$ l) pada akhir inkubasi

	Asetat	propionat	ibutirat	butirat	ivalerat	valerat	ikaproat	kaproat
kontrol	3,96	0,92	0,12	0,38	0,34	0,17	0,08	0,80
TSD-3	5,00	1,06	0,14	0,48	0,41	0,25	0,19	1,03
TSD-10	4,82	1,08	0,15	0,51	0,43	0,28	0,26	1,08
RD-2	4,83	1,10	0,15	0,53	0,44	0,28	0,26	1,09

Pemberian kultur atau isolat BAL pada anak sapi atau domba baru merupakan uji awal dan pengaruhnya hanya dilihat pada pertambahan berat badannya. Untuk penelitian yang lebih lanjut diperlukan sampel anak-anak sapi atau domba yang lebih banyak. Hasil yang dapat dilaporkan adalah pertambahan berat badan harian anak sapi sebesar 0,5 kg, sedangkan anak-anak domba rata-rata 0,25 kg (dibanding kontrol 0,17 kg).

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan:

1. Pertumbuhan isolat BAL rumen optimum dicapai pada 18 jam, pH 6,2 dan temperatur 38°C.
2. Produksi biomasa sel isolat BAL terpilih dari berbagai volume medium mencapai 3,23-4,27 mg/ml.
3. Inokulasi isolat BAL ke rumen menurunkan jumlah bakteri , tetapi meningkatkan konsentrasi semua komponen VFA.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous. 1991. Plant for fermented milk products containing lactic acid bacteria. *New Technology Japan*. Vol. 19. No.1. pp. 2-4.
- Havenaar, R., Brink, B.T. dan Huis In't Veld, J.H.J. 1992. Selection of strains for probiotic use. *In: Probiotics, The scientific basis*. Ed. Fuller, R. Chapman & Hall, London. pp. 209-224.
- Wallace, R.J. dan Newbold, C.J. 1992. Probiotics for ruminants. *In: Probiotics, The scientific basis*. Ed. Fuller, R. Chapman & Hall, London. pp.317-354.