

PENINGKATAN SKALA PRODUKSI PROBIOTIK KHAMIR MUTAN DALAM MEDIUM TAPIOKA IRADIASI

M.R. Pikoli¹, D. Mahdyah¹ dan I. Sugoro^{1,2}

¹Biologi Jurusan MIPA FST UIN Syarif Hidayatullah

²Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi - BATAN

ABSTRAK

PENINGKATAN SKALA PRODUKSI ISOLAT MUTAN KHAMIR PROBIOTIK DALAM MEDIUM TAPIOKA IRADIASI. Peningkatan produksi ternak ruminansia dapat ditingkatkan melalui pemberian probiotik khamir. Produksi probiotik dapat dilakukan secara kultur bertahap. Khamir yang digunakan adalah isolat khamir mutan R110 dan R210 hasil iradiasi sinar gamma yang memiliki kemampuan regenerasi tinggi. Bahan dasar medium yang digunakan adalah tapioka hasil iradiasi sinar gamma 10 kGy. Tahapan percobaan terdiri dari produksi secara bertahap dengan volume 30, 300, 1000 dan 2000 ml dalam medium tapioka 1% (b/v). Parameter yang diamati adalah pertumbuhan dan pH medium. Hasil percobaan menunjukkan bahwa pertumbuhan kedua isolat memiliki pola yang sama dengan nilai korelasi 0,90 untuk setiap tahapan produksi dan secara umum produksinya dapat ditingkatkan secara bertahap. pH medium selama masa inkubasi, kisarnya masih dalam batas pertumbuhan khamir, yaitu 4 - 5.

Key words : yeast probiotics, ruminant, scale up culture and irradiated tapioca.

ABSTRACT

PRODUCTION SCALE UP OF PROBIOTIC YEAST MUTANT ISOLATE IN TAPIOCA MEDIUM. The ruminant livestock products can be increased by supplementation of yeast probiotics. The production of yeast probiotic can be conducted by scale up culture. The yeast probiotic used were mutant isolates R110 and R210 which resulted from irradiated of gamma ray and have the highest regeneration. The base media were used tapioca irradiated with doses of 10 kGy. The experiment has been conducted sequently in volume 30, 300, 1000 and 2000 ml of 1 % (w/v) tapioca medium. The parameters observed were growth patterns and pH. The result showed that both of isolates had the same growth patterns with correlation 0,90 for each production volume and the production could be increased by scale up culture. The pH of medium were in normal range for yeast growth, i.e 4 - 5.

Kata kunci : probiotik khamir, ruminansia, kultur bertahap, dan tapioka radiasi.

PENDAHULUAN

Kebutuhan akan daging dan susu yang berasal dari ternak ruminansia (sapi, kerbau, dan kambing) terus meningkat sebanding dengan meningkatnya populasi manusia. Namun para peternak sapi lokal memiliki banyak kendala dalam meningkatkan produksi ternaknya. Di antara penyebabnya adalah rendahnya tingkat penambahan bobot badan sapi dan panjangnya jarak beranak sapi, yang keduanya dipengaruhi oleh efisiensi konversi nutrisi pakan menjadi bahan yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan ternak. Berbagai cara telah ditempuh untuk mengatasi kendala-kendala tersebut. Perbaikan nutrisi dapat dilakukan dengan teknik manipulasi pakan, misalnya melalui pemberian suplemen pakan dalam bentuk probiotik yang dapat meningkatkan produksi dan kualitas daging dan susu (1). Suplemen probiotik ini dapat diintroduksi ke dalam pakan konsentrat (2).

Suplemen berupa jamur, khususnya khamir, sering digunakan sebagai bahan probiotik karena sangat mudah diisolasi dari habitatnya dan mudah pula untuk diproduksi.

Pada penelitian terdahulu telah dilakukan isolasi khamir dari cairan rumen kerbau dan telah dipilih isolat R1 dan R2 sebagai isolat yang memiliki potensi sebagai bahan probiotik. Dalam rangka meningkatkan kemampuan pertumbuhannya, isolat R1 dan R2 diiradiasi dengan sinar gamma. Berdasarkan proses seleksi, isolat khamir mutan R110 dan R210 yang merupakan hasil iradiasi sinar Gamma dengan dosis 10 Gy, dipilih sebagai mutan yang terbaik yang memiliki kemampuan pertumbuhan yang tinggi (3).

Produksi probiotik khamir dalam skala besar memerlukan medium dari bahan yang murah dan mudah didapat, serta memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi. Di antara bahan yang memenuhi syarat tersebut adalah tapioka yang memiliki kandungan karbohidrat lebih dari 80%. Tapioka harus disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan sebagai bahan medium pertumbuhan khamir. Tapioka yang disterilisasi dengan autoklaf akan membentuk koagulasi menjadi gel, sehingga khamir tidak dapat tumbuh pada medium tersebut. Sterilisasi tapioka dapat ditempuh dengan cara iradiasi dan dalam bentuk kering (4).

gamma menyebabkan terjadinya pemutusan rantai polimer menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga mendukung pertumbuhan khamir. Dosis iradiasi untuk sterilisasi tapioka yang terbaik sehingga mendukung pertumbuhan isolat khamir R110 dan R210 adalah 10 kGy (5). Berdasarkan hasil pengujian, penggunaan tapioka iradiasi dapat mendukung pertumbuhan isolat khamir dalam skala 30 ml.

Dalam percobaan ini akan dilakukan produksi khamir secara bertahap isolat khamir R110 dan R210 dengan medium tapioka iradiasi. Peningkatan volume secara bertahap ini akan dijadikan dasar untuk produksi pada skala yang lebih besar.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat khamir R110 dan R210, medium *Potato Dextrose Agar* (PDA, Oxoid) untuk pemeliharaan isolat khamir, medium *Potato Dextrose Broth* (PDB, Oxoid) untuk pembuatan inokulum khamir, tapioka Cap Gunung Agung yang telah diiradiasi 10 kGy, asam laktat 10% dan akuades steril. Alat-alat yang digunakan antara lain shaker, kamar hitung Neubauer (*haemocytometer*), pH-meter, sentrifus, desikator, timbangan analitik, ose dsb.

Pembuatan Medium Tapioka Iradiasi.

Serbuk tapioka ditimbang seberat 50 g, lalu dikemas dengan plastik polietilen. Selanjutnya serbuk tapioka di dalam plastik diiradiasi dengan sinar gamma 10 Gy dengan menggunakan Iradiator IRPASENA PATIR BATAN. Medium tapioka 1% yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dengan melarutkan 0,3 g serbuk tapioka yang telah diiradiasi ke dalam 30 ml akuades steril (4).

Pembuatan Kultur Inokulum.

Isolat khamir dalam medium PDA yang berumur 1 hari diinokulasikan sebanyak 3 ose ke dalam 30 ml medium PDB yang telah ditambahkan dengan asam laktat 10% (0,33 ml). Setelah diinkubasi selama 1 hari di dalam shaker pada suhu ruang (25-30°C) dan agitasi 120 rpm, jumlah sel kultur inokulum ini dihitung dengan kamar hitung Neubauer (4).

Pembuatan Kurva Tumbuh Bertingkat.

Peningkatan skala produksi biomassa isolat khamir dilakukan secara bertahap dengan volume 30, 300, 1000 dan 2000 ml. Sebanyak 10% v/v (10^6 sel/ml) kultur inokulum khamir diinokulasikan ke dalam medium tapioka iradiasi 10 kGy untuk membuat 30 ml kultur khamir. Kemudian kultur khamir dalam medium tapioka

iradiasi diinkubasi pada suhu ruang (25-30 °C) dengan agitasi 120 rpm. Selama diinkubasi, pH medium diukur dan jumlah sel dihitung pada jam ke - 0, 4, 8, 12, 18, 24, 32, 48, 72, dan 96. Kultur pada tahap 30 ml dibuat kembali sampai tercapai waktu dengan kecepatan pertumbuhan tertinggi, yang kemudian digunakan sebagai inokulum sebanyak 10% untuk membuat kultur 300 ml. Demikian pula untuk inokulum pada kultur 1000 ml dan 2000 ml dibuat dari kultur volume yang lebih rendah sebelumnya. Parameter yang diukur adalah pertumbuhan sel dan pH medium.

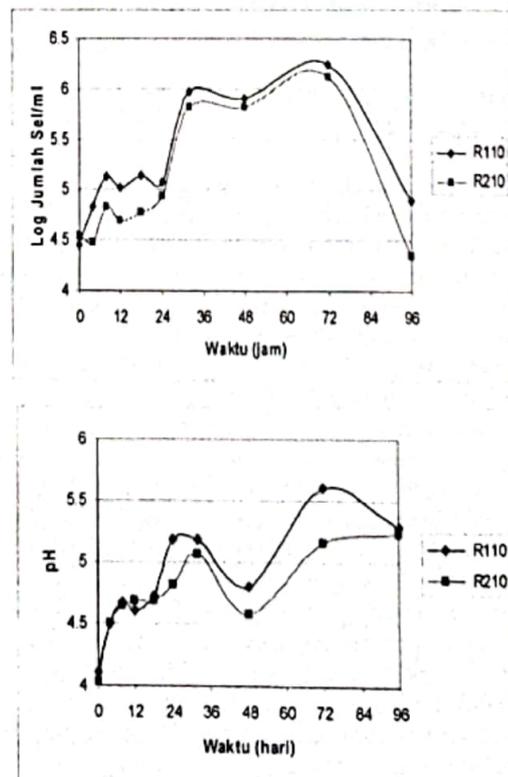
Analisis Data.

Data yang diperoleh dari penelitian ini diolah dengan menggunakan analisis korelasi dengan bantuan program SPSS 11.0 (6).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Isolat Khamir dalam Medium Tapioka Iradiasi Volume 30 ml

Pertumbuhan isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi 10 kGy memperlihatkan pola yang sama (Gambar 1A). Hal ini didukung pula oleh nilai korelasinya sebesar 0,96 yang menyatakan adanya hubungan yang nyata. Pola yang sama karena tidak



Gambar 1. Pertumbuhan (A) dan pH media (B) isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi volume 30 ml pada suhu ruang dan agitasi 120 rpm.

Isolat khamir R110 dan R210 mengalami pola pertumbuhan diauksik, yang ditandai dengan adanya lebih dari satu fase eksponensial. Kedua isolat tampak memiliki fase eksponensial pertama sebelum jam ke-8, kedua sebelum jam ke-32, bahkan rentang setelah jam ke-48 sampai jam ke-72 dapat dianggap sebagai fase eksponensial ketiga. Produksi sel isolat khamir R110 dan R210 terjadi pada jam ke-72 dengan jumlah sel R110 sebesar $1,7 \times 10^6$ sel/ml dan R210 sebesar $1,3 \times 10^6$ sel/ml. Pola pertumbuhan diauksik ini terjadi karena medium tapioka iradiasi mengandung senyawa-senyawa dengan panjang rantai yang berbeda-beda akibat radiasi, di mana monomer glukosa digunakan paling dahulu, kemudian senyawa yang lebih kompleks akan dipecah dan digunakan setelah glukosa pertama habis (7).

Perubahan pH terjadi dalam medium tapioka iradiasi pada isolat khamir R110 dan R210 selama masa inkubasi (Gambar 1B). Hal ini menunjukkan terjadinya suatu proses fermentasi. Perubahan pH dalam medium tapioka iradiasi pada isolat khamir R110 berkisar 4,11-5,29, dan pada isolat khamir R210 berkisar 4,03-5,24. Perubahan pH yang terjadi dalam medium tersebut masih dalam batas pertumbuhan khamir yaitu 2,5-8,5 (8).

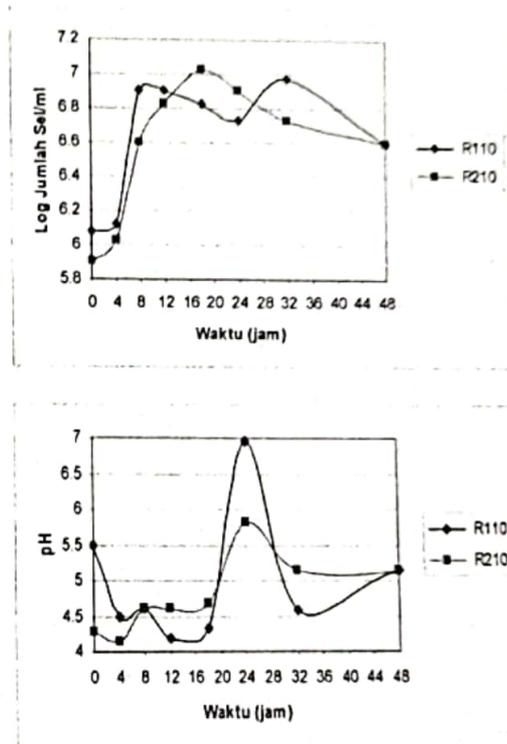
Pertumbuhan Isolat Khamir dalam Medium Tapioka Iradiasi Volume 300 ml

Berdasarkan kurva pertumbuhan pada produksi 30 ml, inokulum untuk medium produksi 300 ml diperoleh dari medium produksi 30 ml berumur 24 jam karena setelah umur tersebut pertumbuhan akan mencapai kecepatan paling tinggi. Pertumbuhan isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi memperlihatkan pola yang hampir sama (Gambar 3). Hal ini didukung pula oleh nilai korelasinya sebesar 0,89 yang menyatakan adanya hubungan yang nyata.

Pada Gambar 2A tampak bahwa pertumbuhan isolat khamir R110 dan R210 hampir tidak menunjukkan fase adaptasi. Hal disebabkan karena inokulum yang diberikan pada tahap ini telah teraktivasi pada tahap sebelumnya (30 ml). Puncak pertumbuhan pada isolat khamir R110 terjadi pada jam ke-32 dengan jumlah sel sebesar $9,3 \times 10^6$ sel/ml, sedangkan puncak pertumbuhan isolat khamir R210 terjadi lebih lambat, yaitu pada jam ke-18, namun dengan jumlah sel yang lebih tinggi, yaitu $1,1 \times 10^7$ sel/ml. Isolat R110 masih menunjukkan pola pertumbuhan diauksik menyerupai pertumbuhan pada 30 ml, yaitu fase eksponensial pertama sebelum jam ke-8 dan kedua sebelum jam ke-32.

Perubahan pH dalam medium 300 ml juga mengalami fluktuasi selama masa inkubasi

(Gambar 2B). Hal ini menunjukkan terjadinya suatu proses fermentasi. Perubahan pH dalam medium tapioka iradiasi pada isolat khamir R110 berkisar 5,5-5,44 dan pada isolat khamir R210 berkisar 4,28-6,03.



Gambar 2. Pertumbuhan (A) dan pH media (B) isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi volume 300 ml pada suhu ruang dan agitasi 120 rpm.

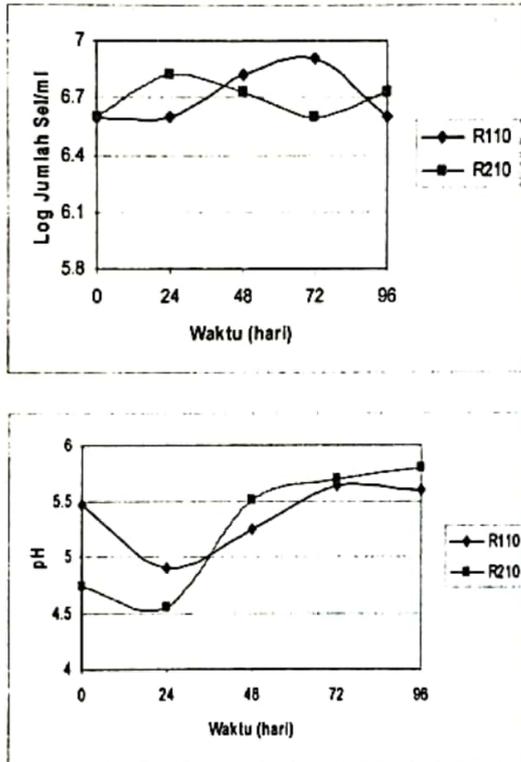
Pertumbuhan Isolat Khamir dalam Medium Tapioka Iradiasi Volume 1000 ml

Berdasarkan kurva pertumbuhan pada produksi 300 ml, inokulum untuk medium produksi 1000 ml diperoleh dari medium produksi 300 ml berumur 4 jam karena setelah umur tersebut pertumbuhan akan mencapai kecepatan paling tinggi. Pertumbuhan pada isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi memperlihatkan pola pertumbuhan yang berbeda satu sama lain (Gambar 3A). Hal ini dibuktikan dengan nilai korelasi yaitu -0,39, yang berarti bahwa hubungan antara isolat khamir R110 dan R210 berbeda nyata.

Pertumbuhan isolat khamir R110 dalam medium tapioka iradiasi memperlihatkan puncak pertumbuhan tertinggi pada jam ke-72 dengan jumlah sel sebesar 8×10^6 sel/ml, yang didahului dengan fase adaptasi yang cukup panjang; sedangkan puncak pertumbuhan isolat khamir R210 dicapai pada jam ke-24 dengan jumlah sel

sebesar $6,6 \times 10^6$ sel/ml. Jumlah sel tertinggi dari kedua isolat lebih rendah dan lebih lambat dicapai daripada produksi pada volume 300 ml. Namun peningkatan pertumbuhan yang masih terjadi cukup untuk dijadikan dasar untuk meningkatkan skala menjadi 2000 ml.

Proses fermentasi ditunjukkan pula oleh adanya perubahan pH selama masa inkubasi (Gambar 3B). Perubahan pH dalam medium tapioka iradiasi pada isolat khamir R110 berkisar 5,46-5,59 dan pada isolat khamir R210 berkisar 4,74-5,69.

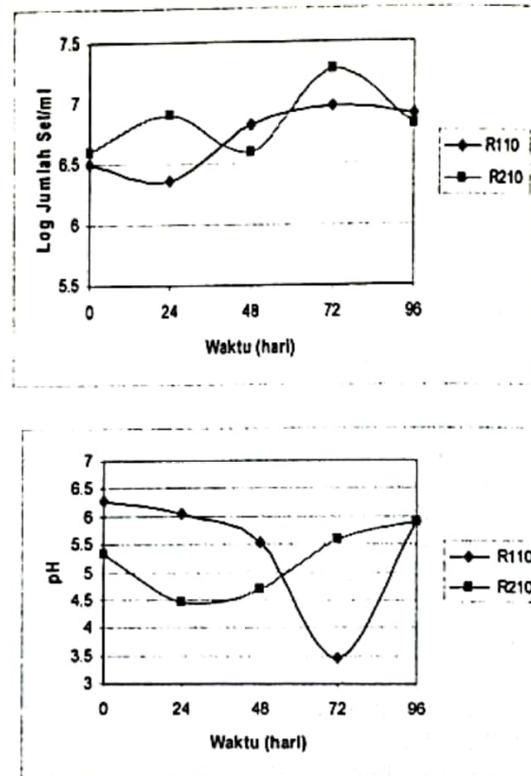


Gambar 3. Pertumbuhan (A) dan pH media (B) isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi volume 1000 ml pada suhu ruang dan agitasi 120 rpm.

Pertumbuhan Isolat Khamir dalam Medium Tapioka Iradiasi Volume 2000 ml

Berdasarkan kurva pertumbuhan pada produksi 1000 ml, inokulum untuk medium produksi 2000 ml diperoleh dari medium produksi 1000 ml berumur 24 jam pada isolat R110 dan berumur 18 jam pada isolat R210 karena setelah umur tersebut pertumbuhan akan mencapai kecepatan paling tinggi. Pertumbuhan isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi memperlihatkan pola dan kecepatan pertumbuhan yang berbeda satu sama lain (Gambar 4A). Hal ini dibuktikan dengan nilai

korelasi sebesar 0,36. Nilai ini menunjukkan bahwa hubungan antara isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi memiliki hubungan yang berbeda nyata.



Gambar 4. Pertumbuhan (A) dan pH media (B) isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi volume 2000 ml pada suhu ruang dan agitasi 120 rpm

Puncak pertumbuhan tertinggi pada isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi terjadi pada jam ke-72 dengan jumlah sel R110 sebesar $9,3 \times 10^6$ sel/ml dan R210 sebesar $1,8 \times 10^6$ sel/ml. Seperti pada volume 1000 ml, pertumbuhan isolat R110 didahului dengan fase adaptasi yang cukup panjang; sedangkan isolat R210 sebelum jam ke-24 dapat mencapai fase eksponensial. Isolat R210 kembali mengalami pola pertumbuhan diauksik, dengan jumlah sel tertinggi dicapai pada puncak kedua; pola pertumbuhan R210 pada volume 2000 ml ini dapat dikatakan lebih baik daripada volume sebelumnya, hal ini menunjukkan bahwa isolat R210 memiliki potensi untuk dikembangkan atau ditingkatkan produksinya menjadi skala produksi yang lebih besar.

Perubahan pH dalam medium tapioka iradiasi pada volume 2000 ml ini (Gambar 4B) juga masih dalam kisaran pertumbuhan khamir,

yaitu berkisar 6,27-5,91 pada isolat khamir R110, dan berkisar 5,34-5,91 pada isolat khamir R210.

KESIMPULAN

Pertumbuhan isolat R110 pada volume medium 1000 ml dan 2000 ml didahului dengan fase adaptasi sekitar 24 jam, meskipun inokulum yang digunakan berasal dari kultur yang telah diaktivasi pada tahap sebelumnya. Dengan peningkatan skala produksi secara bertingkat, isolat R210 memiliki fase adaptasi yang singkat selama 4 jam, bahkan dapat mencapai fase eksponensial lebih cepat pada volume 1000 ml dan 2000 ml daripada volume yang lebih rendah, meskipun jumlah pertambahan sel yang mampu ditingkatkan tidak sebesar pada volume 30 ml dan 300 ml. Secara umum, produksi biomassa isolat khamir R110 dan R210 dalam medium tapioka iradiasi dapat ditingkatkan secara bertahap sampai volume produksi 2000 ml dan memiliki potensi untuk ditingkatkan menjadi volume yang lebih besar lagi.

DAFTAR PUSTAKA

1. PARWATI I.A. Pengaruh Pemberian Probiotik dan Laser Punktur dalam Meningkatkan Bobot Badan Sapi Bali. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan Veteriner, Bogor* : 137. (2000)
2. HARYANTO, B. Penggunaan Probiotik dalam Pakan untuk Meningkatkan Kualitas Karkas dan Daging Domba. *J. Ilmu Ternak & Veteriner* Vol 5(4): 224-228. (2002)
3. SUGORO, I. DAN PIKOLI, M.R.. Uji Viabilitas Isolat Khamir Bahan Probiotik dalam Cairan Rumen Kerbau Steril. *Jurnal Sainika UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta* : 35-60 (2004)
4. SUGORO, I. 2006. Seleksi dan Karakteristik Isolat Khamir Sebagai Bahan Probiotik Ternak Ruminansia dalam Cairan Rumen Steril. *Jurnal Persada* Vol.12 (1).
5. RAHAYU, L.F., PIKOLI, M.R. DAN SUGORO, I. Pengaruh Tapioka Iradiasi terhadap Pertumbuhan Khamir. *Prosiding Seminar Nasional Himpunan Kimia Indonesia* (2006)
6. HADIOETOMO, R.S., *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Gramedia, Jakarta, h. 70-71. (1985)
7. BROCK, T.D., MADIGAN, M.T., MARTINKO, M.J. AND PARKER J. *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall, New Jersey, p. 176.(1994)
8. FARDIAZ, S. *Fisiologi Fermentasi*. PAU IPB, Bogor, h. 21. (1988)

DISKUSI

WAHIDIN T. SASONGKO

Apakah penelitian saudara dengan tapioka sudah mewakili kondisi rumen ?. apakah hal ini bisa mewakili rumen.

M.R. PIKOLI

Memang belum karena ini dengan tapioka adalah untuk produksi khamir sebagai inokulum untuk diberikan ke dalam pakan. Meskipun demikian temperatur produksi telah disesuaikan dengan kondisi rumen, yaitu 39°C.

SUHARYONO

Dalam ternak ruminansia banyak mikroba yaitu protozoa, bakteri dan fungsi, belum melihat abstrak, produksi ternak dapat ditingkatkan melalui pemberian probiotik khamir. Bagaimana anda membedakan bahwa khamir yang berpengaruh dalam produksi ternak. Padahal hasil litbang sebelum bila tidak dikombinasikan dari protozoa, bakteri dan fungsi ternyata F berpengaruh terhadap peningkatan protein dan mikroba dalam rumen. Mohon penjelasan ?.

M.R. PIKOLI

Produksi ternak yang diberi khamir dibandingkan dengan kontrol khamir memiliki pengaruh langsung dan tidak langsung. Selain secara langsung membantu fermentasi pakan dalam rumen, secara tidak langsung memproduksi bahan-bahan (submer N, vit, VFA/sumber karbon) yang dapat digunakan oleh anggota ekosistem rumen lain.