

PRODUKSI GAS IN VITRO PROBIOTIK KHAMIR TERNAK RUMINANSIA

I. Sugoro*, I. Gobel*, N. Lelaningtyas*, dan M.R. Pikoli**

*Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi - BATAN

**Program Studi Biologi UIN Syarif Hidayatullah

ABSTRAK

PRODUKSI GAS IN VITRO PROBIOTIK KHAMIR TERNAK RUMINANSIA. Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian probiotik khamir terhadap produksi gas secara *in vitro* dengan menggunakan cairan rumen kerbau. Probiotik khamir yang digunakan adalah A, B, C, dan D. Bahan pembawa probiotik adalah dedak yang telah disterilisasi sinar gamma dosis 5 kGy. Sampel hijauan yang digunakan adalah serbuk rumput lapangan. Perlakuan percobaan adalah A (probiotik A + serbuk rumput), B (probiotik B + serbuk rumput), C (probiotik C + serbuk rumput), D (probiotik D + serbuk rumput) dan kontrol (serbuk rumput). Parameter yang diukur adalah produksi gas, biomassa bakteri, konsentrasi amonia, konsentrasi asam lemak terbang (VFA), kecernaan bahan kering (% DCBK), kecernaan bahan organik (% DCBO) dan pH. Hasil percobaan menunjukkan bahwa probiotik khamir mempengaruhi produksi gas secara *in vitro*. Produksi gas perlakuan A, B, C, D dan K adalah 19,15 ml/200 mg, 18,153 ml/200 mg, 14,392 ml/200 mg, 13,456 ml/200 mg, dan 14,641 ml/200 mg. Produksi biomassa perlakuan A, B, C, D dan K adalah 0,061 g/30 ml, 0,0674 g/30 ml, 0,0869 g/30 ml, 0,0891 g/30 ml dan 0,0188 g/30 ml. Analisis cairan medium produksi gas menunjukkan bahwa perlakuan probiotik khamir dapat meningkatkan konsentrasi amonia, konsentrasi VFA, % DCBK dan % DCBO dibanding kontrol. Kisaran pH perlakuan adalah 6,99 - 7,04. Berdasarkan hasil percobaan, perlakuan terbaik adalah D.

ABSTRACT

IN VITRO GAS PRODUCTION OF RUMINANTIA YEAST PROBIOTIC. This experiment was carried out to investigate the effects of yeast probiotic on *in vitro* gas production by using buffalo rumen liquid. The isolates of yeast probiotic were A, B, C, and D. The carrier of yeast probiotic was rice bran which was irradiated by 5 kGy of gamma ray. The roughage was powder of grass. The parameters observed were gas production, ammonia concentration, volatile fatty acid (VFA) concentration, dry matter digestibility (% DMD) and organic matter digestibility (% OMD) and pH. The result showed that yeast probiotic effected the *in vitro* gas production. The gas production of A, B, C, D and K treatments were 19,15 ml/200 mg, 18,153 ml/200 mg, 14,392 ml/200 mg, 13,456 ml/200 mg, and 14,641 ml/200 mg. The bacteria biomass of A, B, C, D and K treatments were 0,061 g/30 ml, 0,0674 g/30 ml, 0,0869 g/30 ml, 0,0891 g/30 ml and 0,0188 g/30 ml. The analysis of gas production medium showed that additional yeast probiotic could increased ammonia concentration, VFA concentration, % DMD and % OMD than controll. The pH range of treatment was 6.99 - 7.04. It could be concluded, that the best treatment was D.

PENDAHULUAN

Permasalahan yang dihadapi oleh peternak adalah ketersediaan pakan hijauan yang memiliki kualitas baik dan ketersediaannya yang bersinambungan. Pakan hijauan umumnya mengandung serat tinggi sehingga efisiensi kecernaan berkurang. Salah satu cara untuk mengatasinya adalah dengan menambah suplemen sebagai pakan tambahan (1).

Suplemen yang sering digunakan adalah UMMB (*urea molasses multivitamin block*), yang berperan dalam meningkatkan jumlah mikroba rumen sehingga kecernaan pakan menjadi tinggi (2). Selain itu, suplemen dapat berupa probiotik, yaitu sekumpulan mikroorganisme yang dimanfaatkan untuk mendukung proses biologis organisme lain. Di luar negeri, penggunaan probiotik telah menjadi kecenderungan yang umum sedangkan di Indonesia belum banyak yang menggunakan karena kurangnya sosialisasi dan informasi ke peternak (3).

Probiotik dapat digunakan secara *in vivo* maupun *in vitro*. Secara *in vitro*, probiotik ditambahkan ke dalam pakan untuk mendegradasi serat menjadi senyawa sederhana sehingga mudah untuk dicerna. Sedangkan secara *in vivo*, probiotik diberikan langsung ke ternak sehingga meningkatkan fermentasi pakan dalam rumen dan mempengaruhi metabolisme ternak. Produk probiotik saat ini telah banyak beredar di pasaran dan umumnya merupakan produk impor, seperti Enzion dan Bioplus (4).

Mikroba yang dapat digunakan sebagai sumber probiotik dapat berupa bakteri dan jamur. Akan tetapi jamur lebih banyak digunakan karena untuk produksi dan penanganannya lebih mudah dibandingkan dengan bakteri. Suplemen dengan menggunakan jamur seperti kapang *Aspergillus oryzae* dan khamir *Sacharomyces cerevisiae* (4). Sumber probiotik dapat diperoleh dengan cara mengisolasi langsung dari cairan rumen ternak itu sendiri sehingga saat pengaplikasian lebih mudah karena mikroba telah teradaptasi dalam

cairan rumen sebelumnya. Hasil isolasi yang telah dilakukan menunjukkan keanekaragaman khamir dengan tingkat produksi biomassa dan kemampuan metabolisme yang berbeda-beda (5).

Pemberian probiotik sebaiknya dilakukan secara teratur karena akan memberikan keuntungan seperti meningkatkan produksi susu, mempercepat proses birahi setelah melahirkan, meningkatkan berat badan ternak dan mencegah diare, meningkatkan produksi bulu dan penampilan ternak. Terjadinya kesetimbangan populasi mikroflora rumen adalah hal yang sangat penting untuk pemecahan dan pencernaan bahan pakan menjadi nutrisi yang berguna bagi ternak. Beberapa penelitian yang dilakukan menunjukkan, bahwa produksi susu dapat meningkat hingga 5 pound atau lebih per ekor per hari bagi sapi perah dan peningkatan bobot badan 500 - 1000 g per ekor per hari bagi sapi potong setelah pemberian probiotik khamir (6).

Masalah yang dihadapi dalam produksi biomassa khamir adalah bahan medium. Penggunaan bahan medium harus semurah mungkin tanpa mengurangi kemampuan khamir sebagai probiotik ternak ruminansia. Bahan-bahan medium pertumbuhan khamir yang banyak digunakan adalah bahan berkarbohidrat tinggi seperti ekstrak kentang atau bahan substitusi yang memiliki kemampuan sama seperti ekstrak ubi jalar dan ubi kayu (7).

Dalam percobaan ini akan digunakan dedak sebagai bahan pembawa probiotik. Dedak sebagai bahan pembawa harus disterilisasi terlebih dahulu. Salah satu cara sterilisasi adalah dengan menggunakan radiasi sinar gamma. Keuntungan sterilisasi dengan menggunakan sinar gamma adalah terjadinya pemotongan senyawa berantai panjang menjadi senyawa lebih sederhana sehingga dedak selain sebagai bahan pembawa juga dapat digunakan langsung oleh mikroba di dalam rumen. Hasil percobaan yang telah dilakukan menyatakan bahwa dosis 5 kGy dapat digunakan untuk sterilisasi dedak (7).

Berdasarkan hal tersebut, percobaan yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian probiotik khamir dengan pengujian produksi gas secara *in vitro*. Prinsip metode ini adalah suatu teknik simulasi keadaan lingkungan rumen sebenarnya dengan menginkubasi cairan rumen pada media buffer secara anaerob pada suhu 39°C dengan variasi periode inkubasi.

BAHAN DAN METODE

Produksi biomassa khamir. Isolat khamir R1, R1x, R1y, dan R1z berumur satu hari dalam medium PDA diinokulasikan sebanyak dua òse ke dalam medium inokulum produksi (ekstrak ubi jalar) 30 ml dan diinkubasi pada suhu kamar

dengan agitasi 120 rpm selama 24 jam. Setelah itu kultur khamir diinokulasikan ke dalam medium produksi biomassa (ekstrak ubi jalar) 300 ml dan diinkubasi pada suhu kamar dan agitasi 120 rpm selama 48 jam (7).

Pembuatan serbuk probiotik. Dedak yang telah disterilkan dengan iradiasi sinar gamma dosis 5 kGy (9) dicampur dengan kultur khamir (1 : 1) dan dikeringkan dalam oven 50°C selama 1 malam. Serbuk probiotik dimasukkan ke dalam plastik dan untuk digunakan pada percobaan selanjutnya.

Uji *in vitro* produksi gas. Uji ini digunakan untuk mengetahui proses fermentasi dengan inokulum cairan rumen secara *in vitro*. Komposisi sampel dicampur sampai homogen seperti dapat dilihat pada Tabel 1. Masing-masing sampel perlakuan dimasukkan ke dalam *syringe* dan ditambah 30 ml larutan buffer (buffer karbonat, makromineral dan mikromineral) dan cairan rumen (8), kemudian diinkubasi pada suhu 39°C selama 24 jam dan dicatat kenaikan volume gasnya. Sampel selanjutnya diamati pH, pencernaan bahan kering (DCBK) dan organik (DCBO), biomassa bakteri, amonia dan asam lemak terbang (VFA).

Tabel 1. Komposisi perlakuan produksi gas secara *in vitro*.

Perlakuan (isolat khamir)	Pelet probiotik	Dedak	Rumput lapangan
A (R1)	25 mg	-	200 mg
B (R1x)	25 mg	-	200 mg
C (R1y)	25 mg	-	200 mg
D (R1z)	25 mg	-	200 mg
K ₁	-	-	200 mg
K ₂	-	25 mg	-

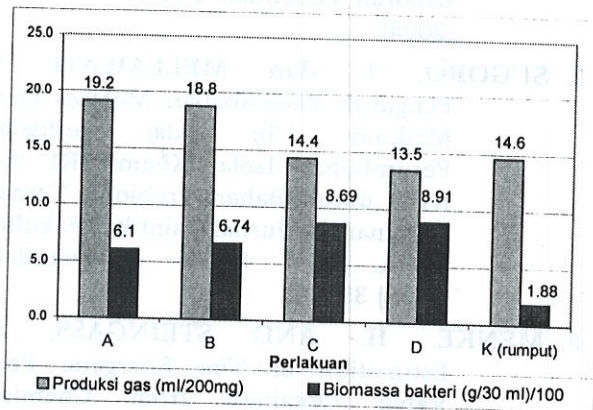
Analisis Statistik. Data yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan ANOVA dengan uji Duncan ($P < 0,05$) dengan menggunakan program SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil percobaan menunjukkan variasi produksi gas yang dipengaruhi oleh pemberian probiotik khamir (Gambar 1). Produksi gas tertinggi terjadi pada perlakuan A, yaitu 19,15 ml/200 mg diikuti berturut-turut dengan perlakuan B, C, D dan K (rumput), yaitu 18,153 ml/200 mg, 14,392 ml/200 mg, 13,456 ml/200 mg, dan 14,641 ml/200 mg. Secara statistik, perlakuan A dan B berbeda nyata dengan perlakuan C, D dan K. Menurut Deacon (9), pemberian probiotik khamir dapat meningkatkan produksi gas. Akan tetapi hasil percobaan pada perlakuan R1y dan

R1z, gas yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan kontrol.

Gas yang dihasilkan merupakan hasil fermentasi pakan, terutama bahan organik menjadi VFA yang dilakukan oleh mikroba rumen. Gas yang terbentuk adalah CO₂ 64 %, CH₄ 25 - 27 %, N₂ 7 % dan sedikit O₂, H₂, dan H₂S. Jumlah gas yang sedikit dapat disebabkan oleh terpakainya bahan organik terfermentasi untuk sintesis protein mikroba (10).



Gambar 1. Produksi gas secara *in vitro* dan biomassa bakteri perlakuan A (probiotik R1 + serbuk rumput), B (probiotik R1x + serbuk rumput), C (probiotik R1y + serbuk rumput), D (probiotik R1z + serbuk rumput) dan K (serbuk rumput) setelah 24 jam inkubasi pada suhu 39°C.

Hal ini didukung dari data biomassa bakteri uji produksi gas secara *in vitro* (Gambar 1). Produksi biomassa tertinggi terjadi pada perlakuan D, yaitu 0.0891 g/30 ml, diikuti berturut-turut perlakuan C, B, A dan K, yaitu 0.0869 g/30 ml, 0.0674 g/30 ml, 0.061 g/30 ml dan 0.0188 g/30 ml. Penyebab rendahnya produksi gas pada perlakuan C dan D karena tingginya biomassa bakteri dibandingkan perlakuan lainnya. Tingginya biomassa bakteri dapat diduga sebagai pengaruh dari probiotik khamir yang dapat meningkatkan populasi mikroba karena probiotik khamir dapat memproduksi faktor pertumbuhan bakteri seperti asam malat dan menambah kestabilan pH rumen yang mendukung pertumbuhan bakteri selulolitik (9).

Sintesis protein oleh mikroba memiliki kontribusi penting sebesar 59% dari asam amino yang masuk ke dalam usus halus, selain asam amino yang lolos dari degradasi akan melengkapi kebutuhan asam amino ternak untuk memproduksi lebih cepat (10). Produksi gas yang rendah juga menguntungkan dalam hal pengurangan gas rumah kaca, karena kontribusi gas rumah kaca yang terbesar kedua berasal dari peternakan (12).

Tabel 2. Konsentrasi amonia, VFA, % pencernaan bahan kering (DCBK), % pencernaan bahan organik (DCBO) dan pH medium produksi gas secara *in vitro*.

Perlakuan (isolat khamir)	N-NH ₃ (mg/100 ml)	VFA (mM/L)	DCBK (%)	DCBO (%)	pH
A (R1)	29,2625 ^a	12,3 ^a	28,31 ^a	24,63 ^a	7 ^a
B (R1x)	33,6074 ^b	11,8 ^a	28,99 ^a	25,22 ^a	6,99 ^a
C (R1y)	22,4169 ^c	8,8 ^b	38,10 ^b	33,15 ^b	7 ^a
D (R1z)	35,0826 ^b	6,8 ^b	41,92 ^b	36,47 ^b	7,04 ^a
K	21,3644 ^d	8,2 ^b	25,27 ^c	21,98 ^c	7,08 ^a

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (<0,05) hasil uji Duncan.

Hasil analisis cairan medium produksi gas perlakuan probiotik khamir mempengaruhi konsentrasi amonia, konsentrasi VFA, % DCBK, % DCBO dan pH (Gambar 2).

Analisis amonia cairan rumen menunjukkan bahwa konsentrasi amonia medium produksi gas perlakuan lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan kontrol. Konsentrasi amonia tertinggi terjadi pada perlakuan D, yaitu 35,0826 mg/100 ml, diikuti dengan perlakuan B, A, C, dan kontrol, yaitu 33,6074 mg/100 ml, 29,2625 mg/100 ml, 22,4169 mg/100 ml, dan 21,3644 mg/100 ml. Konsentrasi amonia yang tinggi pada perlakuan D karena tingginya jumlah bakteri, yaitu 0.0891 g/30 ml akibat pemberian probiotik. Konsentrasi amonia mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri di dalam medium karena amonia akan digunakan sebagai sumber N untuk memenuhi kebutuhan nutrisinya. Tingginya konsentrasi amonia dalam medium produksi gas berasal dari larutan buffer dan degradasi protein yang tidak terabsorpsi. Buffer karbonat yang digunakan dalam percobaan *in vitro* mempunyai kontribusi pada konsentrasi NH₃ cairan rumen mencapai 22,5 mg/100 ml (11).

Konsentrasi VFA perlakuan bervariasi dan lebih tinggi dibanding kontrol, kecuali perlakuan D. Konsentrasi VFA tertinggi terjadi pada perlakuan A, yaitu 12,3 mM/L, diikuti dengan perlakuan B, D, C, kontrol dan D, yaitu 11,8 mM/L, 8,8 mM/L, 8,2 mM/L dan 6,8 mM/L. VFA merupakan hasil fermentasi dari karbohidrat pakan dalam medium dengan komponen utama terdiri dari C₂, C₃, C₄ yang merupakan sumber energi utama bagi ruminansia. Menurut Van Soest (12) produksi VFA yang digambarkan dengan produksi gas mempunyai hubungan terbalik dengan sintesis protein mikroba, apabila produksi gas yang dihasilkan tinggi maka sintesis protein mikroba rendah, sebaliknya jika produksi gas rendah maka sintesis protein mikroba tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Makkar, Blummer dan Becker (13) bahwa tingginya

degradasi pakan yang tidak diikuti dengan produksi gas mengindikasikan bahwa hasil degradasi tersebut banyak dimanfaatkan untuk sintesis protein mikroba.

Kecernaan bahan kering dan organik perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. DCBK dan DCBO tertinggi terjadi pada perlakuan D, yaitu 41,92% dan 36,47 % diikuti dengan C, B, dan A, yaitu 38,10 % dan 33,15 %, 28,99 % dan 25,22 % , 28,31 % dan 24,63 %, sedangkan kontrol 25,27 % dan 21,98 %. Tingginya DCBK dan DCBO tidak diikuti dengan tingginya produksi gas karena tingginya pertumbuhan bakteri (10). Probiotik khamir yang ditambahkan dalam medium produksi gas mampu meningkatkan DCBK dan DCBO sekitar 4-12 %.

pH awal perlakuan medium perlakuan produksi gas secara *in vitro* adalah 7,02 dan setelah diinkubasi 24 jam berkisar 6,99 - 7,08. Perubahan pH ini menunjukkan terjadinya proses fermentasi bahan-bahan yang ada dalam medium oleh mikroba (14). Salah satu pengaruh dari probiotik khamir adalah menstabilkan pH rumen dengan menjaga pH pada kisaran 6,5 - 7,0. pH optimal untuk pertumbuhan mikroba selulolitik adalah > 6,50 sehingga apabila pH < 6,50 akan menurunkan laju degradasi dinding sel (9).

KESIMPULAN

Hasil percobaan menunjukkan bahwa probiotik khamir mempengaruhi produksi gas secara *in vitro* dengan perlakuan terbaik adalah D dengan produksi gas 13,456 ml/200 mg, biomassa bakteri 0,0891 g/30 ml, konsentrasi amonia 35,0826 mg/100 ml, konsentrasi VFA 6,8 mM/L, DCBK 41,92 %, DCBO 36,47 % dan pH 7,04.

DAFTAR PUSTAKA

1. WILLIAMSON, G. AND PAYNE, W.J. Pengantar Peternakan di Daerah Tropis, Edisi ketiga, Gajah Mada University Press. (1993) 45 - 60
2. ANONIMUS. ATOMOS : UMMB. BATAN. (1997) 1 - 6
3. SUGORO I, PIKOLI, M. Uji Viabilitas Isolat Khamir Bahan Probiotik dalam Cairan Rumen Kerbau Steril. Prosiding Pertemuan Ilmiah P3KRBiN-BATAN. Jakarta. (2004) 60 - 65
4. SNIFFER, DURAND, ONDARZA, AND DONALDSON. Predicting of a Live Yeast Strain on Rumen Kinetics and Ration Formulation, Dowload from : animal. Cals. Arizona.edu/swnmc/papers. Tanggal 20 Oktober 2004 (2004)
5. WALKER, G.M. Yeast Physiology and Biotechnology. John Willey and Sons. Chichster. (1997) 102 - 110
6. SUGORO, I DAN PIKOLI, M. Isolasi dan Seleksi Ragi Mutan dari Cairan Kerbau Sebagai Bahan Probiotik. Laporan Penelitian P3TIR - BATAN. (2004)
7. SUGORO, I. dan MELLAWATI, J. Pengaruh Penambahan Molases pada Medium Ubi Jalar terhadap Perumbuhan Isolat Khamir R1 dan R110 untuk Bahan Probiotik Ternak Ruminansia. Jurnal Saintika. Fakultas MIPA. UIN Syarif Hidayatullah. (2005) 35 - 60
8. MENKE, H. AND STEINGASS, A. Estimation of The Energetic Feed Value Obtained from Chemical Analysis and In Vitro Gas Production Using Rumen Fluid. Anim.Res.Dev. (1988) 28 : 7 - 55
9. DEACON, J. The microbial Word : Yeast and Like Yeast Fungi. Institute of Cell and Molecular Biology. The University of Edinburg. (1997) 1 - 5
- 10.ORSKOV, E.R. AND RYLE.M. Energy Nutrition in Ruminants. Elsevier Sci. PUGI. Ltd. London. (1990) 25 - 50
- 11.MBANZAMIHIGO, L., FIEVEZ, V., CARLIER, L., AN, DEMEYER, D. Effect of Sward Composition and Quality and Supplementation on Methane Emission by Grazing Cattle. J. Anim.Sci. 77. (2000) 1392 - 1401
- 12.VAN SOEST. Nutritional Ecology of The Ruminant. 2nd Edition. Cornell University Press. New York. (1994) 1 - 120
- 13.MAKKAR, H.P.S, M.BLUMMEL AND K.BECKER. Formation of Complexes Between Polyvinyl Pyrolidones on Polyethilen Glycoes and Tannin and Their Implication in gas Production and True Digestibility. *In Vivo Tech.* Brit. J. of Nutr.73. (1995) 893 - 913
- 14.PELCZAR, M. J. AND CHAN. E.C.S. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI Press. Jakarta. (1992) 75 - 89

DISKUSI

A. NASROH K

Tidak semua pemberian probiotik meningkatkan produksi mikroba, hanya A dan B sedangkan C dan D sama/lebih rendah dari control (rumput) Apa beda A,B dan C,D?

IRAWAN SUGORO

Perlakuan A dan B memproduksi gas lebih tinggi dibandingkan perlakuan C dan D serta kontrol. Sedangkan perlakuan C dan D memproduksi biomassa bakteri lebih tinggi dibandingkan A dan B serta kontrol. Ada hubungan antara produksi gas dengan produksi biomassa bakteri yaitu bila produksi gas tinggi maka produksi biomassa bakteri rendah, karena fermentasi bahan yang terjadi banyak digunakan untuk sintesis protein mikroba (biomassa bakteri)

ADRIA PM

Pada percobaan ini bahan pembawa probiotiknya adalah dedak yang telah disterilisasi sinar gamma dosis 5 kGy. Bagaimana bisa ditentukan dosis 5 kGy tersebut? apakah sudah optimal untuk sterilisasi dedak tersebut? dasarnya apa?

IRAWAN SUGORO

Sebelumnya telah dilakukan percobaan dengan berbagai dosis dan ternyata dosis terendah yang mampu mensterilkan dedak adalah 5 kGy. Parameter untuk mengetahui dedak steril adalah enumerasi langsung jumlah jamur dan bakteri.