

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK PROTEIN *CRUDE* ISI SALURAN PENCERNAAN AYAM BROILER YANG DIBERI PAKAN TAMBAHAN *PLIEK U*

Antibacterial Activity of Crude Protein Extract of Digestivus Tract Content on Broiler Fed with Pliek U Addition

Ratna Dewi¹, Nurliana², dan Faisal Jamin³

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: anda26973@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh penambahan *pliek u* dalam ransum terhadap aktivitas antibakteri ekstrak protein *crude* isi saluran pencernaan ayam broiler. Penelitian ini dilakukan dengan mengisolasi ekstrak protein *crude* dari isi saluran pencernaan ayam broiler yang telah diberi pakan tambahan *pliek u*. Ayam broiler dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Setiap perlakuan terdiri atas lima ulangan. Kelompok 1 sebagai kontrol, kelompok II, III, dan IV masing-masing diberi pakan dengan tambahan *pliek u* 0,5; 1; dan 2%. Rata-rata diameter zona hambat *Bacillus subtilis* pada konsentrasi *pliek u* 0,5; 1, dan 2% masing-masing adalah 1,6±0,65; 3,48±,03; 4,2±2,30 mm sedangkan pada kontrol tidak terukur (<1). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak protein *crude* dari saluran pencernaan ayam broiler yang diberi pakan tambahan *pliek u* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

Kata kunci: aktivitas antibakteri, *pliek u*, ekstrak protein *crude*, saluran pencernaan

ABSTRACT

The aim of the research was to know the effect of *pliek u* addition in feed of broiler on antibacterial activity of crude protein extract of broiler digestive tract contents. Broilers were divided into four treatment groups. Each treatment consisted of 5 replications. First group as a control group was fed without *pliek u* addition, group II, III, and IV were fed with the addition of 0.5, 1, and 2% *pliek u*, respectively. The average of inhibition zone diameter of *Bacillus subtilis* on *pliek u* concentration of 0.5, 1, and 2% were 1.6±0.65, 3.48±0.30, 4.2±2.30 mm, respectively, while on control group was not measured (<1). It can be concluded that crude protein extract from digestivus tract of broiler fed with *pliek u* addition is able to inhibit *Bacillus subtilis* bacteria growth.

Key words: antibacterial activity, *pliek u*, crude protein extract, tract digestivus

PENDAHULUAN

Saluran pencernaan semua hewan dapat dianggap sebagai tabung dari mulut sampai ke anus dan berfungsi untuk mencerna, mengabsorpsi, dan mengeluarkan sisa makanan yang tidak tercerna. Disamping itu, saluran pencernaan merupakan tempat perkembangbiakan mikroorganisme yang segera terbentuk setelah dilahirkan. Saluran pencernaan akan menjadi *barrier* koloni mikroorganisme non patogen dan patogen (Abun, 2008).

Mikroorganisme yang terdapat dalam usus merupakan ekosistem yang kompleks yang terdiri atas sejumlah besar bakteri (Kokosharov, 2001). Saluran pencernaan ayam mengandung lebih dari 640 spesies bakteri. Komposisi mikroorganisme saluran pencernaan dapat dipengaruhi oleh pakan dan lingkungan (Apajalahti *et al.*, 2004). Stabilitas mikroorganisme juga dapat dipengaruhi oleh antibiotik dan komponen lain yang terdapat dalam usus (Garigga *et al.*, 1998).

Antibiotik telah lama digunakan dalam usaha peternakan, baik digunakan untuk pengobatan (*therapeutic*) maupun untuk pencegahan penyakit atau peningkatan produksi (*subtherapeutic*). Keuntungan penggunaan antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan (*growth promoter*) diantaranya meningkatkan produksi dan efisiensi penggunaan ransum. Kerugian penggunaan antibiotik selain dapat menimbulkan resisten terhadap

antibiotik tertentu dan juga residu yang tersisa pada produk-produk peternakan, sehingga diperlukan bahan alternatif yang mampu memacu pertumbuhan dan sekaligus dapat menyelesaikan masalah yang disebabkan oleh bakteri patogen (Juariah, 2008).

Penggunaan produk-produk hasil fermentasi sebagai *feed additive* dapat menjadi alternatif untuk mengurangi penggunaan antibiotik yang menghasilkan residu dalam karkas ayam dan resisten terhadap mikroorganisme. Menurut Supriyati *et al.* (1998), fermentasi terhadap bungkil inti sawit menyebabkan adanya kandungan nutrisi bahan pakan tersebut.

Pliek u merupakan produk fermentasi tradisional Aceh yang mengandung senyawa antibakteri. *Pliek u* digunakan oleh masyarakat Aceh sebagai bumbu masak dan bahan tambahan pakan untuk ternak unggas mereka. Fermentasi merupakan salah satu teknologi pengolahan bahan makanan secara biologis yang melibatkan aktivitas mikroorganisme guna memperbaiki gizi bahan berkualitas rendah menjadi lebih baik dan juga diketahui menghasilkan senyawa anti mikroorganisme (Nurliana, 2009).

Aktivitas bakteri dapat dikendalikan dengan penghambatan secara fisik maupun kimia. Salah satu senyawa anti mikroorganisme secara kimia merupakan hasil dari aktivitas metabolisme mikroorganisme itu sendiri (Silvikasari, 2011), misalnya protein atau peptida atau yang lebih dikenal sebagai bakteriosin.

Bakteriosin mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme sensitif terutama bakteri gram positif (Nurliana, 1997). Bakteriosin selain berperan dalam menjaga kesehatan ternak dan manusia melalui keseimbangan pencernaan, juga berperan sebagai pengawet alami dalam penyimpanan dan pengolahan bahan (Soomro *et al.*, 2002). Disamping itu, bakteriosin juga dapat diisolasi dari produk-produk fermentasi dan saluran pencernaan manusia dan hewan. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak protein *crude* isi saluran pencernaan ayam broiler yang diberi pakan tambahan *pliek u*.

MATERIAL DAN METODE

Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas empat perlakuan. Tiap-tiap perlakuan masing-masing terdiri atas lima pengulangan. Pada perlakuan I (K0) ayam diberi ransum komersial sebagai kontrol, perlakuan II (K1) ayam diberi ransum komersial dengan penambahan 0,5% *pliek u*, perlakuan III (K2) ayam diberi ransum komersial dengan penambahan 1% *pliek u*, dan perlakuan IV (K4) ayam diberi ransum komersial dengan penambahan 2% *pliek u*.

Pengambilan Organ

Pengambilan organ dilakukan pada hari ke-36 dengan cara menyembelih, kemudian isi saluran pencernaan dikeluarkan dan ditempatkan dalam tabung reaksi dengan suhu -20°C .

Isolasi Ekstrak Protein *Crude*

Isolasi ekstrak protein *crude* dimodifikasi dari prosedur kerja Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Sampel yang mengandung protein sebanyak 1 g dari saluran pencernaan, ditambahkan Phosphat Butter Saline (PBS) dengan dosis 5x. Sampel lalu divorteks selama 5 menit dan disentrifus 3000 rpm selama 15 menit dan didinginkan dalam refrigrator selama 5 menit. Kemudian disentrifus lagi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Endapan yang diperoleh disimpan sedangkan supernatan diambil dan ditambahkan etanol absolut 1:1 dan divorteks. Sampel di diamkan sampai terbentuk endapan dalam pendingin refrigrator selama 24 jam lalu disentrifus pada 3000 rpm selama 1 menit kemudian didinginkan dengan refrigrator selama 5 menit dan disentrifus lagi dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 menit lalu didinginkan lagi selama 5 menit. Kemudian disentrifus lagi dengan kecepatan 1000 rpm selama 2 menit lalu supernatan yang diperoleh disimpan dan endapan yang dihasilkan dikering anginkan sampai bau etanol hilang lalu ditambahkan cmc 1:1 kemudian disimpan pada suhu -20°C .

Pembuatan Media untuk Pengujian Aktivitas Antibakteri

Medium yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri uji (*Bacillus subtilis*) adalah medium NA (*Nutrient Agar*). Sebanyak 28 g NA dilarutkan dalam

100 ml akuades steril, kemudian dipanaskan di atas *hot plate*. Larutan medium kemudian disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Kusumaningjati, 2009).

Pembuatan Media Cair *Nutrient Broth* (NB)

Sebanyak 13 gram NB dilarutkan dalam 100 ml akuades steril, kemudian dihomogenkan di atas *hot plate*. Larutan medium kemudian di sterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Kusumaningjati, 2009).

Pembiakan Bakteri pada Media Cair

Bakteri *Bacillus subtilis* pada agar miring diambil dengan menggunakan ose lalu masukkan pada media cair (NB) kemudian inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C (Dwidjoseputro, 1994).

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dikerjakan sesuai dengan prosedur Nurliana (1997) dan Nurliana (2009), menggunakan cakram kertas diameter 13 mm. Ekstrak protein *crude*, masing-masing sebanyak 100 μl , ditetaskan di atas cakram kertas. Cakram kertas diletakkan di atas media agar yang mengandung bakteri uji (*Bacillus Subtilis*), lalu diinkubasi pada suhu pertumbuhan optimal bakteri uji (*Bacillus subtilis*) 37°C . Sebagai kontrol digunakan pelarut etanol dan akuades. Kriteria penetapan aktivitas antibakteri berdasarkan Ela *et al.* (1996), yaitu antibakteri aktif dan sangat aktif (zona hambatan > 11 mm), aktif sedang (zona hambatan 6-11 mm), dan tidak aktif (zona hambatan < 6 mm).

Parameter Penelitian

Parameter yang diukur adalah diameter zona hambat disekeliling kertas cakram dari masing-masing perlakuan.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran daya hambat dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian setelah pemberian *pliek u* dengan konsentrasi 0,5; 1; dan 2 % dalam ransum ayam broiler menunjukkan bahwa protein yang diekstrak dari isi saluran pencernaan ayam broiler dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* yang dibuktikan dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram. Rata-rata zona hambat protein *crude* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat *Bacillus subtilis* dari berbagai konsentrasi pemberian *pliek u* dalam ransum ayam

Penambahan <i>pliek u</i> (%)	diameter zona hambat (mm \pm SD)
0	0 \pm 0
0,5	1,6 \pm 0,65
1	3,5 \pm 2,03
2	4,2 \pm 2,30

Dari Tabel 1 dapat dilihat adanya perbedaan zona hambat protein kasar diantara keempat konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Pada saat penelitian, perlakuan tanpa penambahan *pliek u* (kontrol) menghasilkan zona hambat namun tidak terukur, karena alat ukur yang digunakan tidak dapat membaca diameter zona hambat yang kurang dari 1 mm. Kandungan isi usus ayam yang memperlihatkan aktivitas antibakteri dalam bentuk senyawa protein membuktikan bahwa ayam broiler mengekspresikan senyawa antibakteri. Menurut Lee *et al.* (1989) dan Wang *et al.* (2009), setiap makhluk hidup, baik tumbuh-tumbuhan dan hewan pasti menghasilkan senyawa peptida yang sifat antimikroba, salah satunya dapat diperoleh dari dalam saluran pencernaan. Aktivitas antibakteri isi saluran pencernaan ayam pada penelitian ini dapat disebabkan oleh penambahan *pliek u* dalam ransum.

Pliek u mengandung komponen yang bersifat antimikroorganisme terhadap bakteri (Nurliana dkk., 2010). Menurut de Lange *et al.* (2010), menambahkan bahan-bahan *feed additive* atau *feed ingredients* sebagai pengganti antibiotik dalam pakan babi, dapat meningkatkan respon imun babi, menurunkan patogen dalam saluran pencernaan babi, menstimulus keseimbangan mikroorganisme saluran pencernaan, dan menstimulus fungsi saluran pencernaan. Komponen-komponen yang ditambahkan dalam pakan dan dapat menurunkan patogen saluran pencernaan dapat berupa asam-asam organik dan anorganik, minyak esensial, bumbu masak, prebiotik dan peptida antimikroba.

Diameter zona hambat cenderung meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi dalam perlakuan, walaupun terdapat inkonsistensi aktivitas antibakteri dari setiap ulangan per perlakuan. Elifah (2010), melaporkan hal yang sama, diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri. Hal ini kemungkinan terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta jenis bakteri uji dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu.

Kontrol terhadap pelarut etanol sebagai kontrol positif menunjukkan adanya zona hambat. Hal ini mengindikasikan bahwa kontrol yang digunakan berpengaruh pada uji antibakteri sedangkan kontrol terhadap akuades tidak menunjukkan zona hambat. Perbedaan struktur dinding sel menentukan penetrasi, ikatan dan aktivitas senyawa antibakteri (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri Gram positif lebih peka terhadap senyawa antibakteri dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (Fardiaz, 1989). Hal ini dapat terjadi karena struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak prukin crude dari saluran pencernaan ayam broiler yang diberi pakan tambahan *pliek u* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abun. 2008. Hubungan Mikroflora Dengan Metabolisme Dalam Saluran Pencernaan Unggas Dan Monogastrik. Jurusan Nutrisi Dan Makanan Ternak. **Makalah Ilmiah**. Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Apajalahti, J., A. Kettunen and H. Graham. 2004. Characteristic of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **J. Poultry Sci.** 60(1):223-232.
- deLange, C.F.M., J. Pluske, J. Gong, C.M. Nyachoti. 2010. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science.** 134:124-134.
- Dwidjoseputro, D. 1994. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Djambatan, Jakarta.
- Ela, M.A., N.S. El-Shaer, and N.B. Ghanem. 1996. Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. **Pharmazie.** 51:993-995.
- Elifah, E. 2010. Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum*, D.Don) terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. **Skripsi**. FMIPA UNS, Surakarta.
- Fardiaz, S. 1989. **Mikrobiologi Pangan**. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Garigga, M., M. Pascual, J.M. Monfort, and M. Hugas. 1998. Selection of lactobacilli for chicken probiotic adjuncts. **J. Applied Microbiology** 84(1):125-132.
- Jawetz, E., J. Melnick, L. Aldelberg, E.A. 2005. **Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan**. (Diterjemahkan Huriati dan Hartanto). EGC, Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Juariah, D. 2008. Pemanfaatan Daun Jarak (*Jatropha curcas* L.) Sebagai Anti bakterin Alami dan Pengaruhnya Terhadap Performa Serta Keseimbangan Mikroflora Saluran Pencernaan Ayam Pedaging. Program Studi Ilmu Nutrisi Dan Makanan Ternak. **Skripsi**. Fakultas Peternakan, Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Kokosharov, T. 2001. Some observation on the caecal microflora of the chicken during experimental acute fowl typhoid. **Revue Med. Vet.** 152(7):531-534.
- Kusumaningjaty, F. 2009. Potensi Antibakteri Kitosan sebagai Pengawet Tahu. **Skripsi**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lee, J.Y., A. Boman, S. Chuanxin, M. Andersson, H. Jornvall, V. Mutt, and H.G. Boman. 1989. Antibacterial peptides from pig intestine: Isolation of a mammalian cecropin. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 86:9159-9162.
- Nurliana. 1997. Pengaruh penambahan Bakteriosin dan Gabungan Produksi Bakteri Asam Laktat Terhadap Jumlah Bakteri dalam Susu Pasteurisasi. **Tesis**. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nurliana. 2009. Prospek makanan Tradisional Aceh Sebagai Makanan Kesehatan: Eksplorasi Senyawa Antimikroba dari Minyak *Pliek u* dan *Pliek u*. **Forum Pascasarjana.** 32(1):1-10.
- Nurliana, M. Sudarwanto, L. I. Surdiman, dan A. W. Sanjaya. 2010. Aktivitas antimikroba dan penetapan LC 50 ekstrak kasar etanol dari *pliek u* : makanan fermentasi tradisional aceh. **J. kedokteran hewan.** (2):150-156.
- Silvikasari. 2011. Aktivitas Anti bakteri Ekstrak Kasar Flavonoid Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). **Skripsi**. Departemen Biokimia. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Soomroe, A.H., T. Masud, and Anwaar. 2002. Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-A review. **Pakistan J.Nutr.** 1(1):20-24.
- Sukaryana, Y., U. Atmomarsono, V.D. Yunianto, dan E. Supriyatna. 2011. Peningkatan nilai kecernaan protein kasar dan lemak kasar produk fermentasi campuran bungkil inti sawit dan dedak padi pada broiler. **Tesis**. Jurusan Peternakan, Politeknik Negeri Lampung dan Program Doktor Ilmu Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang.
- Supriyati, T. Pasaribu, H. Hamid, dan A. Sinurat. 1998. Fermentasi bungkil inti sawit secara substrat padat dengan menggunakan *Aspergillus niger*. **Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner.** 3(3):12-17.
- Wang, D., W. Ma, R. She, Q. Sun, Y. Liu, Y. Hu, L. Liu, Y. Yang, and K. Pong. 2009. Effects of swine gut antimicrobial peptides on the intestinal mucosal immunity in specific-pathogen-free chickens. **Poultry Science** 88:967-974.