

PENGARUH PENGGUNAAN ASAM AMINO LISIN PADA ENKAPSULASI PROBIOTIK *Lactobacillus fermentum* TERHADAP JUMLAH MIKROBA DAN NILAI pH

Dyah Novianti Ayu Pamungkas¹, M. Farid Wajdi², Usman Ali²

¹Program S1 Peternakan, ²Dosen Peternakan Universitas Islam Malang

Email: novidyah62@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh penggunaan asam amino lisin dalam proses enkapsulasi probiotik *Lactobacillus fermentum* (LF) terhadap jumlah mikroba dan nilai pH, sehingga diperoleh dosis asam amino lisin yang optimal dalam enkapsulasi probiotik *Lactobacillus fermentum*. Materi yang digunakan penelitian ini adalah isolat bakteri *Lactobacillus fermentum*, asam amino lisin, Zwavelzure Ammoniak (ZA), maltodekstrin, dan tepung maizena. Metode penelitian ini adalah eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah penggunaan asam amino lisin sebagai pengganti ZA dalam proses enkapsulasi probiotik LF, yang meliputi P0=ZA 1%, P1= asam amino lisin 1%, P2= asam amino lisin 1,6%, P3= asam amino lisin 2,2%, dan P4= asam amino lisin 2,8%. Analisis ragam penggunaan asam amino lisin menunjukkan pengaruh yang tidak nyata ($P>0,05$) terhadap jumlah mikroba dan berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap nilai pH. Rata-rata jumlah mikroba (cfu/g) yaitu P0=5,33x 10⁹, P1=7,37 x 10⁹, P2=8,45 x 10⁹, P3=7,70 x 10⁹, P4= 9,93 x 10⁹. Untuk nilai pH memiliki rata-rata P0= 2,65^a, P1= 2,66^a, P2= 2,67^a, P3= 2,69^a, P4= 2,84^b. Kesimpulan penelitian ini adalah penggunaan asam amino lisin pada enkapsulasi probiotik LF cenderung menaikkan jumlah mikroba dan menurunkan nilai pH. Disarankan menggunakan bahan asam amino lisin dosis 2,8% sebagai nutrient bagi mikroba LF terenkapsulai karena lebih aman bagi ternak nonruminansia.

Kata kunci : enkapsulasi probiotik, asam amino lisin, jumlah mikroba, nilai pH.

THE EFFECT OF USE OF LICIN AMINO ACID ON *Lactobacillus fermentum* PROBIOTIC ENCAPSULATION ON MICROBA AMOUNT AND pH VALUE

Abstract

The aim of research the use amino acid lysine in the process of probiotic encapsulation of *Lactobacillus fermentum* (LF) against the number of microbes and pH values, resulting in the optimal dose of lysine amino acids in the encapsulation of the probiotic *Lactobacillus fermentum*. The materials used in this research are bacterial isolates of *Lactobacillus fermentum*, amino acid lysine, Zwavelzure Ammoniak (ZA), maltodextrin, and cornstarch. This method of research is experimentation using complete random draft (RAL) consisting of 5 treatments and 4 repeats. The treatment used in this study is the use of the amino acid lysine as a substitute for ZA in the process of probiotic encapsulation of LF, which includes P0 = ZA 1%, P1 = amino acids lysine 1%, P2 = amino acids lysine 1.6%, P3 = amino acid lysine 2.2%, and P4 = lysine amino acids 2.8%. The analysis of the range of uses of lysine amino acids showed no apparent influence ($P > 0.05$) against the number of microbes and very noticeable effect ($P. < 0.01$) against the pH value. Average number of microbes (CFU/g) are. P0 = 5, 33x 10⁹, P1 = 7.37 x 10⁹, P2 = 8.45 x 10⁹, P3 = 7,70 x 10⁹, P4 = 9.93 x 10⁹. For the pH value has an average of P0 = 2, 65a, P1 = 2, 66a, P2 = 2, 67a, P3 = 2, 69a, P4 = 2, 84b. The conclusion of this research is the use of lysine amino acids on the encapsulation of the LF probiotics tends to increase the number of microbes and decrease the pH value. It is recommended to use the amino acid ingredients of lysine dose 2.8% as nutrient for the microbes terenkapsulai because it is safer for nonruminant livestock.

Keywords: probiotic encapsulation, lysine amino acids, microbial counts, pH values.

PENDAHULUAN

Antibiotik yang penggunaannya semakin lama semakin ditentang mengharuskan bahan pengganti lain yang lebih aman. Penolakan masyarakat kepada antibiotik bukan tanpa alasan, dijelaskan bahwa seiring berjalannya waktu, satu demi satu bakteri mulai resisten terhadap pemberian antibiotik. Pada tahun 1950-an telah muncul jenis bakteri baru yang tidak dapat dilawan dengan penisilin. Antara tahun 1950 sampai 1960-an jenis bakteri yang resisten masih belum megkhawatirkan, karena penemuan antibiotik baru masih bisa membasminya. Namun sejak akhir 1960-an, tidak ada lagi penemuan yang bisa diandalkan. Baru pada tahun 1999 ilmuan berhasil mengembangkan antibiotik baru, tetapi sudah semakin banyak bakteri yang resisten terhadap antibiotik (Borong, 2012)

Penemuan probiotik mejadi salah satu cara untuk penggantian antibiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dapat mencapai saluran pencernaan dalam kondisi aktif, dalam jumlah yang cukup guna menghasilkan efek kesehatan yang positif (Isolauri, Kankaanpaa, Arvilommi and Salmien, 2004). Penggunaan probiotik dapat meningkatkan efektivitas mikroba dalam usus, mikroba-mikroba tersebut mampu membantu usus dalam proses pencernaan sehingga proses pencernaan dapat dilakukan secara baik dan kandungan nutrisi yang terkandung dalam bahan pakan dapat dimanfaatkan secara optimal. Kalsum, Soetanto, dan Sjojfan (2012) menyatakan bahwa pemanfaatan probiotik *endogenous* hasil isolasi dari saluran pencernaan mampu mempengaruhi aktivitas enzim dalam usus halus, menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan mencegah kolonisasi di dinding usus halus serta menurunkan kadar kolesterol produk tanpa adanya resiko efek samping, penggunaannya bahkan akan meningkatkan kesehatan ternak maupun konsumennya.

Syarat probiotik adalah tidak patogen, toleran terhadap asam dan garam empedu, mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanannya serta memiliki kemampuan memberi efek kesehatan yang sudah terbukti (Shortt, 1999). *Lactobacillus* sebagai probiotik alternatif penurun kolesterol memiliki kemampuan bertahan terhadap garam empedu, kondisi asam, mampu menghambat bakteri patogen, tahan terhadap

antibiotik dan dapat mengikat kolesterol dengan menempel pada epitel dinding saluran pencernaan (Hood dan Zottola, 1998).

Asam amino lisin merupakan salah satu asam amino esensial yang sangat penting bagi tubuh, namun tubuh tidak bisa memproduksi sendiri asam amino lisin. Maka dari itu penambahan asam amino lisin perlu dilakukan. Tidak hanya bagi manusia, mikroba dalam probiotik juga perlu ditambahkan asam amino esensial tersebut. Alasannya adalah agar memaksimalkan kerja mikroba tersebut dan dapat meningkatkan produksinya. Penggunaan lisin dalam pakan diharapkan dapat meningkatkan terbentuknya karnitin, dengan demikian lemak tubuh yang mengalami

β -oksidasi semakin meningkat, sehingga mengakibatkan kadar lemak dan kolesterol daging rendah (Susandari, Lestari dan Wahyuni, 2004). Untuk melindungi bakteri dalam probiotik perlu dilakukan upaya tertentu seperti enkapsulasi. Enkapsulasi adalah pembentukan kapsul yang menyelubungi probiotik dari kondisi lingkungan yang ekstrim. Teknik ini banyak diaplikasikan pada bidang industri bahan pangan karena mampu mengawetkan makanan relatif lebih lama sehinggamengurangi resiko kerusakan bahan makanan oleh mikroba (Victor dan Heldman, 2001).

Berdasarkan uraian diatas dapat dinyatakan bahwa metode enkapsulasi menjadikan bakteri probiotik tetap hidup dan menjadikan produksi ternak menjadi lebih baik dan optimal. Maka selanjutnya dalam penelitian ini dilakukan penggunaan asam amino lisin dalam proses enkapsulasi probiotik *Lactobacillus fermentum* untuk menentukan jumlah mikroba yang tetap hidup dan nilai pH yang sesuai dengan alat pencernaan.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 4-18 November 2019. Penelitian ini bertempat di Laboratorium Terapan Fapet Unisma, Laboratorium Halal Center Unisma, dan Laboratorium Farmasi FK Unisma. Materi yang digunakan dalam penelitian adalah isolat *Lactobacillus fermentum*, asam amino lisin, Zwavelzure Ammoniak (ZA), maltodekstrin, tepung maizena, aquades, alkohol 70%, larutan buffer, media pertumbuhan bakteri (MRS Borth) dan (MRS Agar). Adapun alat

yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoclave, spuit 1 ml, tabung reaksi 20 buah, erlenmeyer, oven, LAF, waterbath seeker, spektrofotometer, dan pH meter, tisu, kertas label.

Langkah kerja yang pertama yaitu membuat media pertumbuhan mikroba LF dengan cara melarutkan MRS Borth dalam aquades dengan perbandingan 52,2gram/liter sambil dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Kemudian disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 5 menit.

Metode penelitian ini adalah eksperimen menggunakan RAL yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang dilakukan adalah penggantian ZA dengan asam amino lisin dalam enkapsulasi probiotik LF. Masing-masing perlakuan adalah sebagai berikut P0= Tepung maizena 89,5% + Maltodekstrin 9,5 % + ZA 1%, P1 = Tepung maizena 89,5% + Maltodekstrin 9,5% + Lisin 1%, P2= Tepung maizena 88,9% + Maltodekstrin 9,5% + Lisin 1,6%, P3= Tepung maizena 88,3% + Maltodekstrin 9,5% + Lisin 2,2 %, P4= Tepung maizena 87,7% + Maltodekstrin 9,5% + Lisin 2,8%. Dengan menambahkan isolat LF sebanyak 5ml pada masing-masing unit percobaan. Kemudian semua bahan dicampur dan dioven dengan suhu 50°C selama 2-3 jam. Kemudian sampel diinkubasi dalam waterbath seeker dengan suhu 37°C selama 30 jam.

Variabel yang diamati adalah Jumlah Mikroba dan Nilai pH. Kemudian hasil penelitian dianalisis dengan uji ragam ANOVA, dan dilanjutkan uji BNT untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Mikroorganisme

Hasil menunjukkan bahwa penggunaan asam amino lisin dalam proses enkapsulasi probiotik *Lactobacillus fermentum* tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap jumlah mikroba. Hal ini disebabkan karena kadar N pada perlakuan kontrol ZA (P0), dan asam amino lisin pada perlakuan (P1, P2, P3) relatif sama. Hal ini sesuai dengan pernyataan Engelstad (1997) bahwa Kadar N pada ZA yaitu sekitar 20-21%, sedangkan kadar N pada asam amino lisin adalah 19%. Hal yang menyebabkan penggunaan asam amino lisin tidak berpengaruh terhadap jumlah mikroba yaitu karena mikroba *Lactobacillus fermentum* telah terenkapsulasi sehingga bersifat dormansi. Sifat dormansi pada

mikroba *Lactobacillus fermentum* dimulai setelah pengovenan, pengovenan sendiri bertujuan untuk menurunkan kadar air, penurunan kadar air membuat maltodekstrin berubah menjadi kering dan keras, kondisi ini menyebabkan mikroba *Lactobacillus fermentum* terbungkus (terenkapsulasi), sehingga *Lactobacillus fermentum* tidak akan tumbuh, hal ini sesuai dengan pernyataan yang menyebutkan bahwa dormansi adalah suatu keadaan berhenti tumbuh yang dialami organisme hidup atau bagiannya yang disebabkan karena keadaan yang tidak mendukung pertumbuhan normal (Anonimous, 2019). Meskipun demikian penggunaan asam amino lisin juga perlu dilakukan karena mikroba dalam pertumbuhannya membutuhkan nutrisi, ketika sebelum dioven (enkapsulasi mulai bekerja/ aktif), tidak hanya energi akan tetapi juga membutuhkan sumber nitrogen, baik nitrogen organik maupun nitrogen anorganik, nitrogen organik yakni protein dan asam amino, nitrogen anorganik didapatkan dari ZA (Maghfiroh 2012).

Hasil dari rata-rata jumlah mikroba probiotik *Lactobacillus fermentum* setelah melalui proses enkapsulasi (TPC/g), yaitu masing-masing diperoleh hasil P0 $5,33 \times 10^9$, P1 $7,37 \times 10^9$, P2 $8,45 \times 10^9$, P3 $7,70 \times 10^9$, P4 $9,93 \times 10^9$. Dari hasil penelitian terlihat hasil perhitungan jumlah mikroba cenderung naik seperti pada gambar 1.



Gambar 2. Diagram batang rata-rata mikroba pada masing-masing perlakuan

Pertambahan jumlah mikroba dari P0 hingga P4 cenderung mengalami kenaikan. Kenaikan jumlah mikroba tersebut disebabkan karena penggunaan nutrient antara P0 (ZA) dan P1, P2, P3, P4 (asam amino lisin) berbeda sumber N-nya. Kandungan N pada ZA termasuk dalam kategori NPN (*Non Protein Nitrogen*), sedangkan N dalam asam amino lisin termasuk dalam kategori N protein. Perbandingan jumlah mikroba dari inokulan

Lactobacillus fermentum dengan sampel perlakuan cenderung naik, yaitu *Lactobacillus fermentum* sebesar $6,75 \times 10^8$ sedangkan hasil terendah terdapat pada perlakuan P0 $5,33 \times 10^9$, dan hasil perlakuan tertinggi yaitu P4 $9,93 \times 10^9$. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Trinanda (2015) bahwa aktivitas BAL terhadap kadar protein melalui penambahan tepung kedelai, yang menyebutkan bahwa perhitungan mikroba dari *Lactobacillus fermentum* terjadi kenaikan. Kenaikan jumlah bakteri ini dapat disebabkan karena adanya kandungan protein (N) pada tepung kedelai. Meskipun tidak ada pengaruh yang nyata terhadap jumlah mikroba, penggunaan asam amino lisin tetap dianjurkan dibandingkan dengan ZA sebagai sumber nutrient bagi mikroba *Lactobacillus fermentum*, karena asam amino lisin mengandung N organik dan termasuk N protein, sehingga lebih mudah dikonsumsi oleh ternak non ruminansia, sedangkan ZA mengandung N anorganik dan termasuk NPN (*Non Protein Nitrogen*) sehingga akan lebih sulit dicerna oleh ternak non ruminansia, pernyataan ini sesuai dengan Hakim, Supono, Trinoegaha Adiputra, dan Waluyo (2018) yang menyebutkan bahwa nitrogen yang berbahaya bagi udang/ternak adalah dalam bentuk nitrogen anorganik (*mobilized nitrogen*) antara lain amoniak dan nitrit

Nilai pH

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan asam amino lisin berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap nilai pH. Mikroba dalam probiotik *Lactobacillus fermentum* tersebut tergolong jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) hal ini sesuai dengan pernyataan Widowati TW, B Hamzah, A Wijaya, R Pambayun (2014) bahwa *Lactobacillus sp* merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat yang banyak terlibat dalam pangan hasil fermentasi terutama yang melibatkan proses fermentasi. Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai produk metabolit utamanya (Trinanda, 2015).

Pada masing-masing perlakuan mempunyai perbedaan yang sangat nyata terhadap nilai pH yaitu P0 2,84^b, P1 2,69^a; P2 2,67^a; P3 2,66^a; P4 2,65^a;. Hasil pengukuran pH dari probiotik *Lactobacillus fermentum* setara dengan pH dalam gizzard yaitu 2,6 (Sun, 2004), sehingga mikroba dalam probiotik tersebut akan bertahan dalam saluran pencernaan unggas. Dari P0 hingga P4

terjadi penurunan nilai pH, hal ini dikarenakan pada hasil perhitungan jumlah mikroba, dari P0 hingga P4 terjadi kenaikan jumlah mikroba *Lactobacillus fermentum*, kenaikan jumlah tersebut menyebabkan produksi asam laktat semakin banyak sehingga menurunkan nilai pH. Hal ini sesuai dengan pernyataan Trinanda (2015) yang menyebutkan bahwa keasaman probiotik berasal dari BAL (*Lactobacillus fermentum*). Keasaman probiotik berasal dari pertumbuhan BAL, pertumbuhannya berakibat menurunkan kandungan karbohidrat bahan pangan yang difermentasi, sehingga pH akan turun karena produksi asam laktat. Selain itu penurunan ini diduga karena reaksi antara pencampuran bahan-bahan yang ada, yaitu tepung maizena, asam amino lisin, dan *Lactobacillus fermentum*, karena perbedaan titik isoelektrik dari kandungan nutrisi dari ketiga bahan tersebut mengakibatkan terbentuknya titik isoelektrik dan pH yang berada diantara pH campuran bahan akan menurun (Banur, 2002). Perbedaan nilai pada tiap-tiap perlakuan disebabkan karena komposisi pada masing-masing perlakuan berbeda satu-sama lainnya. Penurunan pH juga dapat dikarenakan dosis asam amino lisin dari P0 hingga P4 semakin naik, naiknya dosis asam amino lisin menyebabkan pemanfaatan sumber n semakin banyak, dan pertumbuhan *Lactobacillus fermentum* juga akan naik, sehingga perombakan tepung maizena (karbohidrat) menjadi asam akan semakin cepat dan optimal.

Pada dasarnya asam amino lisin adalah jenis asam amino dengan kategori pH basa. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa terdapat asam amino bergugus R yaitu bermuatan positif (Asam amino basa). Golongan asam amino bermuatan positif pada pH 7.0 terdiri dari lisin, histidin dan arginin (Anonimous, 2000) Pada pH fisiologis, gugus-R dari lisin dan arginin sepenuhnya terionisasi dan bermuatan positif (basa) (Ferrier, 2014). Namun dengan adanya penambahan isolate *Lactobacillus fermentum*, menyebabkan pH dari probiotik berubah menjadi asam

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah penggunaan asam amino lisin pada enkapsulasi probiotik LF cenderung menaikkan jumlah mikroba dan menurunkan nilai pH. Disarankan menggunakan bahan asam amino lisin dosis 2,8% sebagai nutrient

bagi mikroba LF terenkapsulai karena lebih aman bagi ternak non ruminansia.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2000. Dasar-Dasar Biokimia. UI-PRESS. Jakarta
- Banur. 2002. Dalam Dewi, R.K. 2011. Kajian Komposisi Kimia, Kualitas Fisik dan Organoleptik Duck Nuggets dengan Filler Tepung Maizena pada Proporsi yang Berbeda. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Borong, M. F. 2012. Kerasionalan Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Rawat Inap Anak Rumah Sakit M.M Dunda Limboto Tahun 2011. Laporan Hasil Karya Tulis Ilmiah. Progam Studi D-III Farmasi Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan dan Keolahragaan Universitas Negeri Gorontalo. Gorontalo.
- Engelstad, O.P. 1997. Teknologi dan Penggunaan Pupuk. Terjemahan DH. Goenadi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta
- Ferrier, D.R. 2014. Biokimia. Buku Biokimia/Kedokteran. Binarupa Aksara. Simbol penerbit Bermutu.
- Hakim, L, Supono, Y.Trinoegaha Adiputra, S. Waluyo. 2018. Performa Budidaya Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*) Semi Intensif Di Desa Purworejo Kecamatan Pasir Sakti Kabupaten Lampung Timur. Jurnal Rekayasa dan Teknologi Perairan. Vol (6) No (2).
- Hood, S.K. and E.A. Zottola. 1998. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survey and adherence to human intestinal cells. *Journal of Food Science* 53: 1514-1516.
- Isolauri, P., Kankaanpaa., H. Arvilommi and S. Salminen. 2004. Probiotics: effects on immunity. *Am. J. Clin. Nutr.* 73 (2) : 444 – 450.
- Maghfiroh, Umi .2012. Uji viabilitas bakteri indigenous air rendaman kenaf (*Hibiscus cannabinus* L) dalam media bekatul dan lama penyimpanan dengan metode freeze-drying. Undergraduate thesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Shortt, C. 1999. The probiotic century: historical and current perspectives. *Review on Trend Food Science and Technology* 10: 411-417.
- Sun, X., 2004. Broiler Performance and Intestinal Alterations when Fed Drugfree Diets. Thesis. Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia.
- Susandari, L., C. M. S. Lestari dan H. I. Wahyuni, 2004. Komposisi Lemak Tubuh Kelinci yang Mendapat Pakan Pelet dengan Berbagai Aras Lisin. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Fakultas Peternakan. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Trinanda, Muh Ade. 2015. Studi Aktivitas Bakteri Asam Laktat (*L. Plantarum* Dan *L. Fermentum*) Terhadap Kadar Protein Melalui Penambahan Tepung Kedelai Pada Bubur Instan Terfermentasi. Skripsi Kimia. Progam Studi Kimia. Jurusan Pendidikan Kimia. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Yogyakarta
- U. Kalsum., H. Soetanto., O. Sjojfan (2012). Influence of a probiotic containing *Lactobacillus fermentum* on the laying performance and egg quality of japanese quails. Publish in *Livestock Research for Rural Development*.
- Victor, R. P. and D.R. Heldman. 2001. *Introduction to Food Engineering*. 3rd ed. London: Academic Press.
- Widowati, TW. B, Hamzah. A, Wijaya. R, Pambayun. 2014. Sifat Antagonistik *Lactobacillus* Sp B441 Dan Ii442 Asal Tempoyak Terhadap *Staphylococcus Aureus*. Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Jl. Raya Palembang - Prabumulih Km. 32 Inderalaya, Kabupaten Ogan Ilir, Propinsi Sumatera Selatan 30662