

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Rumput Raja (*Pennisetum purpureophoides*) sebagai Kandidat Probiotik pada Ternak

Santoso B¹, Maunatin A², Hariadi BT¹ dan Abubakar H³

¹Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Negeri Papua
E-mail: b.santoso32@yahoo.com

²Jurusan Kimia, Universitas Islam Maliki Negeri Malang, Malang

³Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Papua

(Diterima 18 April 2013; disetujui 12 Juni 2013)

ABSTRACT

Santoso B, Maunatin A, Hariadi BT, Abubakar H. 2013. Isolation and identification of lactic acid bacteria originated from king grass (*Pennisetum purpureophoides*) as candidate of probiotic for livestock. JITV 18(2): 131-137

A study was conducted to isolate and identify strain of lactic acid bacteria (LAB) isolated from king grass, and to determine their potential as candidate of probiotic for livestock. The LAB was isolated by culturing king grass extract in De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) medium. The pure culture LAB was used to identify strain of bacteria using Analytical Profile Index (API) 50 CH kit. The result showed that the strain bacteria was identified as *Lactobacillus plantarum*. *L. plantarum* was able to survive in extreme condition at pH 2 and 0.3% bile salt. *L. plantarum* also survived against pathogenic bacteria *i.e.* *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella thypi*. It is concluded that *L. plantarum* isolated from king grass could potentially be used as probiotic for livestock.

Key Words: Bile salt, Lactic acid bacteria, Pathogen, Probiotic, pH.

ABSTRAK

Santoso B, Maunatin A, Hariadi BT, Abubakar H. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat asal rumput raja (*Pennisetum purpureophoides*) sebagai kandidat probiotik pada ternak. JITV 18(2): 131-137

Suatu studi dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi strain bakteri asam laktat (BAL) yang berasal dari rumput raja, dan mendeterminasi kandidatnya sebagai probiotik pada ternak. Bakteri asam laktat diisolasi dan ditumbuhkan pada media De Man, Rogosa and Sharpe (MRS). Kultur BAL murni digunakan untuk mengidentifikasi strain bakteri dengan menggunakan kit *Analytical Profile Index* (API) 50 CH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa strain bakteri yang teridentifikasi adalah *Lactobacillus plantarum*. *L. plantarum* mampu bertahan pada kondisi ekstrim yaitu pada pH 2 dan garam empedu 0,3%. *L. plantarum* juga bertahan terhadap bakteri patogen yaitu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella thypi*. Disimpulkan bahwa *L. plantarum* yang diisolasi dari rumput raja mempunyai potensi digunakan sebagai probiotik pada ternak.

Kata Kunci: Garam empedu, Bakteri asam laktat, Patogen, Probiotik, pH

PENDAHULUAN

Dewasa ini tren penggunaan pakan aditif alami sebagai manipulator fermentasi di dalam rumen untuk menggantikan pakan aditif yang bersifat kimiawi seperti antibiotik dan ionopor semakin meningkat (Wallace et al. 2002; Hristov et al. 2003; Santoso et al. 2004). Pakan aditif dikatakan ideal apabila memenuhi beberapa persyaratan seperti tidak berbahaya terhadap ternak, tidak terdapat residu di dalam tubuh ternak atau produk ternak, dan penggunaannya aman terhadap lingkungan.

Probiotik merupakan pakan aditif berupa mikroba hidup yang dapat meningkatkan keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan hewan inang yang

berperan meningkatkan kesehatan dan produktivitas (Fuller, 1989). Yoon dan Stern (1995); Salminen dan Wright (2004) menyatakan bahwa pada umumnya mikroorganisme utama yang terdapat dalam probiotik adalah biakan jamur seperti *Aspergillus oryzae* dan *Saccharomyces cerevisiae* dan bakteri asam laktat (BAL) seperti *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus*. Bakteri dapat dinyatakan sebagai probiotik jika dapat bertahan melewati lambung dan usus halus, atau toleran terhadap suasana asam dan garam empedu (Tuomola et al. 2001; Sunny-Roberts dan Knorr, 2008). Di samping itu, bakteri yang dikategorikan probiotik juga harus termasuk kelompok aman atau GRAS (*Generally Recognized as Safe*).

Beberapa hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa penggunaan *S. cerevisiae* sebagai probiotik pada ternak ruminansia dapat meningkatkan produktivitas (Newbold, 1995), dan menurunkan emisi gas metana (Lila et al. 2004 dan Mwenya et al. 2004). Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian probiotik pada pedet dapat menurunkan kasus terjadinya diare serta meningkatkan pertambahan bobot badan harian (Aldana et al. 2009).

Menurut Santoso et al. (2009), populasi BAL yang berasal dari ekstrak rumput raja lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak rumput gajah dan mampu meningkatkan kualitas silase rumput. Sejauh ini belum ada informasi tentang potensi BAL yang berasal dari rumput raja sebagai probiotik pada ternak. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi BAL berasal dari rumput raja serta menguji potensinya untuk digunakan sebagai probiotik pada ternak.

MATERI DAN METODE

Sumber BAL

Hijauan yang digunakan sebagai sumber BAL adalah rumput raja (*Pennisetum purpureophoides*). Rumput ditanam pada plot berukuran 3 × 3 m di Laboratorium Lapang Fakultas Peternakan Perikanan dan Ilmu kelautan Universitas Negeri Papua. Rumput yang telah berumur 50 hari dipotong setinggi 15 cm di atas permukaan tanah kemudian digunakan sebagai sumber BAL.

Pengkayaan BAL

Prosedur pengkayaan BAL berdasarkan modifikasi metode Bureenok et al. (2006), sebagaimana diterapkan oleh Santoso et al. (2009) dan Santoso et al. (2011). Sebanyak 200 g rumput segar ditambahkan dengan 1000 ml aquades kemudian dihancurkan dengan menggunakan *blender* selama 4 menit. Campuran tersebut disaring menggunakan 2 lembar kain kassa. Sebanyak 600 ml filtrat yang dihasilkan, dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi 18 g glukosa. Filtrat diaduk menggunakan *shaker* (GFL 3015, Germany) selama 15 menit dengan frekuensi 20 putaran/menit, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Setelah diinkubasi, sampel filtrat digunakan dalam identifikasi BAL.

Isolasi, purifikasi dan identifikasi BAL

Seratus milliliter sampel dari tahap sebelumnya, dicampur ke dalam media De Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar dan disimpan dalam keadaan anaerobik

pada suhu 37°C menggunakan cawan petri selama 48 jam atau sampai dengan terlihat koloni. Satu koloni dipilih dan dikulturkan dua atau tiga kali untuk mendapatkan biakan murni. Selanjutnya bakteri yang telah dimurnikan digunakan untuk identifikasi strain dari BAL. Strain BAL diidentifikasi menggunakan Kit komersial (API 50 CH, BioMérieux, Inc. Durham, NC, USA) berdasarkan rekomendasi dari pabrik.

Uji toleransi *L. plantarum* terhadap asam, garam empedu dan suhu

Toleransi *L. plantarum* terhadap asam diuji menggunakan modifikasi metode Mourad dan Nour-Eddine (2006). Sebanyak 1 ml isolat BAL yang berumur 24 jam diinokulasikan ke dalam 10 ml MRS broth dan diinkubasi pada 30°C selama 18 jam. Kemudian 1 ml kultur diambil dan dimasukkan ke dalam 9 ml MRS broth dengan pH 2, 3 dan 4 serta kontrol (6,5). Kultur diinkubasi pada 30°C selama 3 jam dan jumlah sel hidup dihitung yang dinyatakan dalam cfu/ml.

Toleransi *L. plantarum* terhadap garam empedu diuji menggunakan modifikasi metode Mourad dan Nour-Eddine (2006). Sebanyak 1 ml isolat BAL yang berumur 24 jam diinokulasikan ke dalam 10 ml MRS broth dan diinkubasi pada 30°C selama 18 jam. Satu mililiter kultur diambil dan dimasukkan ke dalam 9 ml MRS broth yang mengandung 0,3% (b/v) garam empedu (oxgall). Kemudian diinkubasi pada 30°C dan jumlah sel hidup dihitung yang dinyatakan dalam cfu/ml.

Isolat *L. plantarum* yang telah diinkubasi selama 18-20 jam diambil 1 ml dan diinokulasikan ke dalam 9 ml media MRSB. Kemudian diinkubasi pada kondisi suhu 5, 30 dan 37°C selama 24 jam. Setelah itu jumlah sel hidup dihitung dan dinyatakan dalam cfu/ml. Uji toleransi terhadap asam, garam empedu dan suhu dibuat dalam 3 ulangan.

Uji daya hambat bakteri patogen terhadap *L. plantarum*

Daya hambat bakteri patogen diuji dengan menggunakan modifikasi metode Sharaf dan Al Harbi (2011). Bakteri patogen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* (gram positif), *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi* (gram negatif).

Analisis data

Data toleransi terhadap asam, garam empedu dan suhu ditransformasi ke dalam bentuk Ln, kemudian dianalisis menggunakan analisis varians menurut

rancangan acak lengkap dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan apabila $P < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi strain BAL

Hasil uji fermentasi selama 48 jam dengan menggunakan perangkat kit API 50 CH menunjukkan bahwa isolat yang diuji mampu mendegradasi 26 komponen gula yaitu nomor 4, 5, 10, 11, 12, 13, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 39, 40, 45 dan 47 (Gambar 1). Berdasarkan kemampuan mendegradasi gula (reaksi positif) yang dilanjutkan dengan pengujian menggunakan perangkat lunak APIWEB maka disimpulkan bahwa strain BAL yang teridentifikasi adalah *Lactobacillus plantarum*.

Ketahanan *L. plantarum* terhadap asam

Bakteri asam laktat yang digunakan sebagai kultur probiotik idealnya dapat diberikan bersama-sama pakan konsentrat. Oleh sebab itu, BAL harus tahan terhadap berbagai kondisi yang ekstrim di sepanjang saluran pencernaan termasuk di dalam abomasum (lambung sejati). Menurut Kimoto et al. (1999), toleransi terhadap asam merupakan salah satu syarat penting suatu isolat untuk dapat dikategorikan sebagai probiotik. Hal ini disebabkan apabila isolat tersebut masuk ke dalam saluran pencernaan ternak, maka isolat harus mampu bertahan dari pH asam lambung yaitu sekitar 3-5. Hasil uji ketahanan isolat *L. plantarum* terhadap berbagai nilai pH disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Ketahanan *L. plantarum* terhadap asam

pH	Jumlah sel (cfu/ml)	Jumlah sel (Ln)
6,5 (kontrol)	$5,3 \times 10^8$	20,0 ^a
4	$4,9 \times 10^7$	18,3 ^{ab}
3	$3,0 \times 10^7$	16,2 ^b
2	$2,7 \times 10^7$	16,2 ^b
SEM		0,88
P		< 0,05

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa seiring dengan menurunnya pH akan menurunkan populasi *L. plantarum*. Pada perlakuan pH 3 dan 2, populasi *L. plantarum* menurun signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan dengan pH 6,5 (kontrol). Penurunan pH dari 6,5 menjadi pH 3 dan 2 menyebabkan populasi *L. plantarum* menurun sebesar 19%. Menurut Kimoto et al. (1999), bakteri probiotik akan mempunyai efek pada lingkungan usus apabila jumlah populasi dari bakteri tersebut mencapai minimal 10^6 - 10^8 cfu/ml. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sampai dengan pH ekstrim (pH 2), populasi *L. plantarum* masih dalam kisaran yang direkomendasikan oleh Kimoto et al. (1999). Dengan demikian, isolat *L. plantarum* akan mampu melewati lambung yang menghasilkan asam sehingga mampu sampai pada usus bagian bawah untuk dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen. Menurut Todorov et al. (2003), *L. plantarum* bersifat homofermentatif (memfermentasi gula menjadi asam laktat sebagai produk utama) dan tahan terhadap kadar



Gambar 1. Hasil uji isolat BAL setelah 48 jam inkubasi (warna kuning menunjukkan reaksi positif terhadap gula)

asam yang cukup tinggi serta dapat meningkatkan keasaman sebesar 1,5 sampai 2,0% pada substrat.

Pada penelitian ini, *L. plantarum* mampu bertahan pada pH 2, 3 dan 4. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Mourad dan Nour-Eddine et al. (2006), bahwa 4 strain *L. plantarum* indigenus yang diisolasi dari fermentasi zaitun mampu bertahan pada pH 2, 3 dan 4. Pada penelitian lain, Kusumawati (2002) menyimpulkan bahwa strain *L. plantarum* indigenus dari berbagai makanan fermentasi tradisional Indonesia mempunyai persentase ketahanan yang tinggi pada pH rendah. Tercatat sebagian besar *L. plantarum* yang ada mengalami penurunan log tidak sampai 1 unit log/ml.

Isolat *L. plantarum* dapat bertahan pada kondisi pH 2, 3 dan 4 kemungkinan karena kemampuan isolat tersebut untuk mempertahankan pH dalam selnya lebih netral dari pada lingkungan, dapat juga dikarenakan membran sel dari bakteri tersebut lebih tahan dari paparan asam pada lingkungan. Menurut Jay (1992), ketika mikroba hidup pada kondisi di atas atau di bawah pH netral, kemampuan mikroba untuk berpoliferasi bergantung pada kemampuannya untuk membuat pH lingkungannya lebih netral. Pada kondisi asam, sel harus menjaga agar H⁺ tidak masuk atau H⁺ keluar secepatnya setelah ion itu masuk. pH internal dari mikroorganisme mendekati netral.

Menurut Bender dan Marquis (1987), ketahanan Laktobasili pada pH rendah terjadi karena kemampuannya dalam mempertahankan pH internal lebih alkali dari pada pH eksternal dan mempunyai membran sel yang lebih tahan terhadap kebocoran sel akibat terpapar pH rendah. Menurut Hong et al. (2005), bila sel bakteri berada dalam kondisi yang sangat asam, maka membran sel dapat mengalami kerusakan dan berakibat pada hilangnya komponen-komponen intraseluler seperti Mg, K dan lemak dari sel. Kimoto et al. (1999) menyatakan bahwa dalam kondisi yang sangat asam dapat mengakibatkan kerusakan membran dan lepasnya komponen intraseluler yang mampu menyebabkan kematian bakteri. Bakteri lebih tahan asam dan lebih tahan terhadap kerusakan membran akibat terjadinya penurunan pH ekstraseluler dibandingkan dengan bakteri yang lain.

Ketahanan *L. plantarum* terhadap garam empedu

Lactobacillus adalah mikroflora normal yang terdapat di dalam saluran pencernaan dan mempunyai ketahanan yang bervariasi terhadap garam empedu. Ketahanan isolat klinis BAL terhadap garam empedu juga merupakan syarat penting untuk probiotik. Menurut Havenaar et al. (1992), ketahanan terhadap garam empedu merupakan prasyarat suatu isolat untuk dapat membentuk koloni dan melakukan aktivitas metabolisme pada inang. Konsentrasi garam empedu

sebesar 0,3% merupakan konsentrasi yang ekstrim dan nilai yang cukup tinggi untuk menyeleksi galur yang resisten terhadap garam empedu (Gilliland et al. 1984).

Cairan empedu merupakan campuran dari asam empedu, kolesterol, asam lemak, fosfolipid dan pigmen empedu. Sekresi pankreas juga mengandung serangkaian enzim pencernaan. Kombinasi tersebut bersifat bakterisidal bagi mikroorganisme dalam tubuh inang kecuali beberapa genus yang berada di usus dan tahan terhadap garam empedu (Havenaar et al. 1992).

Menurut Bezkorovainy (2006), hambatan yang paling serius bagi ketahanan probiotik pada usus halus adalah garam empedu. Studi resistensi probiotik pada garam empedu secara *in vitro* dapat dibagi menjadi dua tipe yaitu studi ketahanan dan pertumbuhan. Lebih lanjut dikatakan bahwa studi ketahanan pada *Lactobacillus* digunakan konsentrasi 0,3% Ovgall, sedang pada *Bifidobacterium* digunakan konsentrasi 0-1,5% selama kurang dari 3 jam, karena pada umumnya *Lactobacillus* lebih tahan dari pada *Bifidobacterium*. Hasil uji ketahanan *L. plantarum* terhadap garam empedu disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Ketahanan *L. plantarum* terhadap garam empedu

Perlakuan	Jumlah sel (cfu/ml)	Jumlah sel (Ln)
Kontrol (MRS broth)	$2,9 \times 10^{10}$	23,9
Garam empedu	$5,5 \times 10^9$	21,9
SEM		0,73
p		> 0,05

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa isolat *L. plantarum* mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap garam empedu 0,3% (b/v). Perlakuan garam empedu tidak mempengaruhi ($P > 0,05$) populasi *L. plantarum*. Menurut Du Toit et al. (1998), ketahanan bakteri BAL terhadap garam empedu berkaitan dengan enzim *bile salt hydrolase* (BSH) yang membantu menghidrolisis garam empedu terkonjugasi, sehingga mengurangi efek racun bagi sel. Selanjutnya enzim BSH mampu mengubah kemampuan fisik- kimia yang dimiliki oleh garam empedu, sehingga tidak bersifat racun bagi *L. plantarum*. Menurut Smet et al. (1995), *L. plantarum* mempunyai enzim dengan aktivitas untuk menghidrolisis garam empedu.

Ketahanan *L. plantarum* terhadap Berbagai Suhu

Populasi bakteri *L. plantarum* pada perlakuan berbagai suhu disajikan pada Tabel 3. Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa populasi *L. plantarum* pada suhu 5°C lebih rendah ($P < 0,01$) dibandingkan dengan suhu 30 dan 37°C. *L. plantarum* dapat berkembang dengan baik pada suhu 30°C atau suhu ruang. Hasil ini sesuai

dengan Bureenok et al. (2006) yang menyatakan bahwa proses perbanyakkan BAL dapat dilakukan dengan baik pada suhu 30°C. Dibandingkan dengan suhu 30°C, maka populasi *L. plantarum* pada suhu 5°C mengalami penurunan 21,3%.

Tabel 3. Ketahanan *L. plantarum* terhadap berbagai perlakuan suhu

Suhu (°C)	Jumlah sel (cfu/ml)	Jumlah sel (Ln)
5	$5,3 \times 10^9$	21,8 ^b
30	$1,5 \times 10^{12}$	27,7 ^a
37	$5,5 \times 10^9$	23,6 ^{ab}
SEM		0,90
P		< 0,01

SEM: standard error of the mean

Daya hambat *L. plantarum* terhadap bakteri patogen

Bakteri yang paling banyak digunakan sebagai probiotik adalah bakteri dari golongan *Lactobacillus* karena golongan bakteri ini memiliki hampir semua karakteristik yang diperlukan suatu bakteri untuk digunakan sebagai probiotik. *Lactobacillus* dapat menurunkan pH lingkungan usus dengan mengubah glukosa menjadi asam laktat. Kondisi seperti ini dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri patogen (Gotcheva et al. 2002).

Beberapa senyawa yang dihasilkan oleh BAL yang bersifat antimikroba antara lain asam-asam organik, hidrogen peroksida dan senyawa protein atau kompleks protein spesifik yang disebut bakteriosin. Menurut Salminen dan Wright (2004), asam laktat dan asetat adalah salah satu senyawa antimikroba yang dihasilkan BAL. BAL juga menghasilkan hidrogen peroksida yang cukup besar. Akumulasi senyawa tersebut di dalam sel terjadi karena BAL tidak menghasilkan enzim katalase. Pelczar et al. (1993) mengemukakan bahwa senyawa antimikroba dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuh mikroba dengan mekanisme berupa perusakan dinding sel yang dapat mengakibatkan lisis, atau penghambatan sintesis komponennya. Adanya perubahan permeabilitas membran sitoplasma menyebabkan terjadi kebocoran nutrisi dari dalam sel dengan cara menghambat kerja enzim intraseluler.

Salah satu kriteria yang harus dimiliki oleh BAL yang berpotensi sebagai probiotik adalah kemampuannya untuk menghambat bakteri patogen dan mampu berkompetisi dengan bakteri patogen untuk mempertahankan keseimbangan mikroflora usus (Gildberg et al. 1997). Pengujian pada penelitian ini digunakan 3 spesies bakteri patogen yaitu

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* yang mewakili bakteri gram positif dan gram negatif. Selain itu ketiga bakteri patogen ini merupakan mikroflora yang sering ditemukan pada saluran pencernaan. Hasil uji penghambatan *L. plantarum* terhadap *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Daya hambat *L. plantarum* terhadap bakteri patogen

Bakteri patogen	Diameter zona hambat (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	15,3
<i>Salmonella typhi</i>	10,7
<i>Escherichia coli</i>	10,0
SEM	2,37
P	> 0,05

SEM: standard error of the mean

Data Tabel 4 menunjukkan bahwa *L. plantarum* mempunyai kemampuan yang sama ($P > 0,05$) dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Namun demikian, kemampuan *L. plantarum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* relatif lebih kuat dibandingkan bakteri gram negatif (*Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*). Secara umum apabila dibandingkan antara bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, maka bakteri gram negatif relatif mempunyai diameter penghambatan yang lebih kecil dibandingkan dengan bakteri gram positif yang berarti bakteri gram negatif lebih tahan terhadap zat-zat yang bersifat antimikroba dari pada bakteri gram positif. Hal ini dikarenakan perbedaan susunan dinding sel pada bakteri gram negatif dinding selnya lebih tahan terhadap asam dibandingkan dengan gram positif. Bakteri gram negatif mempunyai membran sel yang lebih bersifat semi permeabel sehingga zat antibakteri yang dihasilkan *L. plantarum* lebih sulit masuk dibandingkan dengan bakteri gram positif. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Danielsen dan Wind (2003) bahwa sifat ketahanan terhadap senyawa antimikroba yang dimiliki oleh bakteri gram positif dan bakteri gram negatif berbeda. Penyebab utama adalah perbedaan komposisi senyawa penyusun dinding sel. Pernyataan yang sama dikemukakan pula oleh Jay (1992) bahwa bakteri gram positif cenderung lebih sensitif dibanding bakteri gram negatif.

KESIMPULAN

Isolat BAL yang teridentifikasi dari ekstrak *P. purpureophoides* adalah strain *Lactobacillus plantarum*. *L. plantarum* masih mampu bertahan pada pH ekstrim

2,0 dan garam empedu dengan konsentrasi 0,3% serta membutuhkan suhu 30°C untuk pertumbuhan yang optimum. *L. plantarum* juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. *L. plantarum* mempunyai potensi untuk digunakan sebagai probiotik pada ternak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah menyediakan dana program penelitian Hibah Kompetensi dengan Nomor Kontrak: 144/SP2H/PL/Dit.Litabmas/III/2012 tanggal 7 Maret 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldana C, Cabra S, Ospina CA, Carvajal F, Rodríguez F. 2009. Effect of a probiotic compound in rumen development, diarrhea incidence and weight gain in young holstein calves. *World Acad Sci Eng Technol*. 57:378-381.
- Bender GR, Marquis RE. 1987. Membrane ATPases and acid tolerance of *Actinomyces viscosus* and *Lactobacillus casei*. *Appl Environ Microbiol*. 53:2124-2128.
- Bezkorovainy, A. 2006. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *American J Clin Nutr*. 72:399-405.
- Bureenok S, Namihira T, Mizumachi S, Kawamoto Y, Nakada T. 2006. The effect of epiphytic lactic acid bacteria with or without different by product from defatted rice bran and green tea waste on Napier grass (*Pennisetum purpureum* Shumach) silage fermentation. *J Sci Food Agric*. 86:1073-1077.
- Danielsen M, Wind A. 2003. Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *Int J Food Microbiol*. 82:1-11.
- De Smet I, Hoorde LV, Woestyne LMV, Christianens MH, Verstraete W. 1995. Significance of bile salt hydrolytic activities of lactobacilli. *J Appl Bacteriol*. 79:292-301.
- Du Toit M, Franz CM, Dicks LM, Schillinger U, Harberer P, Warlies B, Ahrens F, Holzapfel WH. 1998. Characterisation and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH, and faeces moisture content. *Int J Food Microbiol*. 40:93-104.
- Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*. 66:365-378.
- Gildberg A, Mikkelsen H, Sandaker E, Ringø E. 1997. Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*) *Hydrobiologia*. 352:279-285.
- Gilliland SE, Staley TE, Bush LJ. 1984. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *J Dairy Sci*. 67:3045-3051.
- Gotcheva V, Hristozova E, Hristozova T, Guo M, Roshkova Z, Angelov A. 2002. Assessment of potential probiotic properties of lactic acid bacteria and yeast strains. *Food Biotechnol*. 16:211-225.
- Havenaar R, Brink BT, Huis in't Veld JHJ. 1992. Selection of strains for probiotic use. In: Fuller R, editor. *Probiotics*. London: The Scientific Basis, Chapman and Hall.
- Hong HA, Duc LH, Cutting SM. 2005. The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiol Rev*. 29:813-835.
- Hristov AN, Ivan M, Neill L, McAllister TA. 2003. Evaluation of several potential bioactive agents for reducing protozoal activity *in vitro*. *Anim Feed Sci Technol*. 105:163-184.
- Jay JM. 1992. *Modern Food Microbiology*. 4th ed. New York NY(USA): Chapman and Hall.
- Kimoto H, Kurisaki J, Tsuji M, Ohmono S, Okamoto T. 1999. Lactococci as probiotic strain: adhesion to human enterocyte-like caco-2 cells and tolerance to low pH and bite. *Lett Appl Microbiol*. 29:313-316.
- Kusumawati. 2002. Seleksi bakteri asam laktat indigenous sebagai galur probiotik pangan dan kemampuan mempertahankan keseimbangan mikroflora feses dan mereduksi kolesterol serum darah tikus (tesis S2). [Bogor (Indones)]: Institut Pertanian Bogor.
- Lila ZA, Mohammed N, Yasui T, Kurokawa Y, Kanda S, Itabashi H. 2004. Effects of a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed ruminal microorganism fermentation *in vitro*. *J Anim Sci*. 82:1847-1854.
- Mourad K, Nour-Eddine K. 2006. *In vitro* preselection criteria for probiotic *Lactobacillus plantarum* of fermented olives origin. *Int J Probiotics Prebiotics* 1:27-32.
- Mwenya B, Santoso B, Sar C, Gamo Y, Kobayashi T, Arai I, Takahashi J. 2004. Effects of including β 1-4 galactooligosaccharides, lactic acid bacteria or yeast culture on methanogenesis, energy and nitrogen metabolism in sheep. *Anim Feed Sci Technol*. 115:313-326.
- Newbold CJ. 1995. Probiotics for ruminants. *Ann Zootech* 45:329-335.
- Pelczar MJ, Chan ECS Jr, Krieg NR, 1993. *Microbiology*. 5th ed. New Delhi (India): Tata McGraw-Hill.
- Salminen S, Wright AV. 2004. *Lactic acid bacteria. microbiology and functional aspects*. 2nd ed. New York NY (USA): Marcell Dekker, Inc.
- Santoso B, Hariadi BT, Alimuddin, Seseray DY. 2011. Kualitas fermentasi dan nilai nutrisi silase berbasis sisa tanaman padi yang diensilase dengan penambahan inokulum bakteri asam laktat epifit. *JITV* 16:1-8.

- Santoso B, Hariadi BT, Manik H, Abubakar H. 2009. Kualitas rumput unggul tropika hasil ensilase dengan aditif bakteri asam laktat dari ekstrak rumput terfermentasi. *Med Pet.* 32:138-145.
- Santoso B, Mwenya B, Sar C, Gamo Y, Kobayashi T, R. Morikawa R, Kimura K, Mizukoshi H, Takahashi J. 2004. Effects of supplementing galacto-oligosaccharides, *Yucca schidigera* and nisin on rumen methanogenesis, nitrogen and energy metabolism in sheep. *Livest Prod Sci.* 91:209-217.
- Sharaf EF, Al Harbi RM, 2011. Isolation, identification and antimicrobial activity of some local isolates of lactic acid bacteria. *Res J Microbiol.* 6:826-838.
- Sunny-Roberts EO, Knorr D. 2008. Evaluation of the response of *Lactobacillus rhamnosus* VTT E-97800 to sucrose induced osmotic stress. *Food Microbiol.* 25:183-189.
- Todorov SD, Botes M, Danova ST, Dicks LMT. 2003. Probiotics properties of *Lactococcus lactis* spp. *Lactis* HV219, isolated from human vaginal secretions. *J Appl Microbiol.* 103:629-639.
- Tuomola E, Crienden R, Playne M, Isolauri E, Salminen S. 2001. Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *Am J Clin Nutr.* 73 (suppl): 393S-398S.
- Wallace RJ, McEwan NR, McIntosh FM, Teferedegne B, Newbold CJ. 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian-Aust J Anim Sci.* 15:1458-1468.
- Yoon IK, Stern MD. 1995. Influence of direct-fed microbials on ruminal microbial fermentation and performance of ruminants: A review. *Asian-Aust J Anim Sci.* 8:533-555.