

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

ISSN: 2302-5697

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Potensi Supernatan Kultur *Lactobacillus* sp. Untuk Mengontrol Pertumbuhan *Aspergillus flavus* FNCC6109 Pada Pakan Konsentrat Ayam

Potential Of *Lactobacillus* sp. Supernatan To Control The Growth Of *Aspergillus flavus* FNCC6109 In Chicken Feed Concentrate

Pande Nyoman Dandy Bimantara*¹, Yan Ramona^{1,2}, N.G.A Manik Ermayanti¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana

²UPT Labrotorium Biosain dan Bioteknologi, Universitas Udayana

Email: yan_ramona@unud.ac.id

INTISARI

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari potensi *Lactobacillus* sp. dan supernatannya dalam mengontrol pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 yang sering mengkontaminasi pakan konsentrat ayam. Penelitian ini dilakukan secara *In vitro* dan pengujian langsung pada pakan konsentrat ayam. Hasil penelitian menunjukkan dua isolat *Lactobacillus* sp. yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi menunjukkan indikasi awal potensi biokontrol terhadap *A. flavus* FNCC6109. Hanya satu isolat terbaik (Isolat I) yang dipakai dalam penelitian lanjutan. Persentase laju pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 pada pakan konsentrat ayam dengan perlakuan supernatan *Lactobacillus* sp. I sebesar 30% (v/v) adalah 72% lebih rendah dibandingkan yang terjadi pada kontrol (pakan konsentrat tanpa perlakuan supernatan *Lactobacillus* sp. I).

Kata kunci : *Lactobacillus* sp., *Aspergillus flavus* FNCC6109, pakan konsentrat ayam

ABSTRACT

The main objective of this research was to investigate the potential of Lactic Acid Bacterial isolates and their supernatants, isolated from yoghurt and kefir, to control the growth of *A. flavus* FNCC6109 in chicken feed concentrate. The experiments were conducted both *In vitro* and directly applied to chicken feed concentrate. The results showed that two Lactic Acid Bacteria were successfully isolated, identified and both showed initial potential to be developed as biocontrol of *A. flavus* FNCC6109. Only one best isolate (isolate I) was used in the further investigation. Percentage of growth reduction of *A. flavus* FNCC6109 in the chicken feed concentrate treated with 30% (v/v) of *Lactobacillus* sp. supernatant was 72% lower than control (chicken feed concentrate without addition of *Lactobacillus* sp. I).

Keywords : *Lactobacillus* sp., *Aspergillus flavus* FNCC6109, chicken concentrate feed

PENDAHULUAN

Salah satu faktor terpenting yang menentukan pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi ternak di Indonesia adalah pakan (Ahmad, 2009). Secara umum, pakan

menentukan 76% dari harga daging dan telur dipasaran (Ningsih dan Prabowo, 2017). Pakan ternak digolongkan menjadi dua kelompok, yaitu pakan hijau dan pakan konsentrat berdasarkan tingkat kesegaran dan kandungan

nutrisinya. Pakan hijau merupakan pakan yang berasal dari tanaman termasuk leguminosa dengan kandungan serat kasar dalam jumlah tinggi, sedangkan pakan konsentrat merupakan pakan yang memiliki fungsi sangat penting karena mengandung serat kasar dalam jumlah kecil sehingga lebih mudah dicerna oleh hewan (Rachmawati, 2005).

Permasalahan utama yang sering dihadapi peternak dalam penyediaan pakan adalah menurunnya kualitas pakan selama penyimpanan yang disebabkan oleh kontaminasi mikroba (Yulien, 2012). Iklim tropis yang didukung oleh kelembaban tinggi dapat mempercepat pertumbuhan kontaminan, khususnya jamur di dalam pakan ternak yang kaya nutrisi (Rachmawati, 2005). Pertumbuhan mikroba berlebihan menyebabkan warna, bentuk, bau dan rasa pakan berubah, sehingga cenderung tidak disukai oleh ternak oleh palabilitas menurun). Penurunan kualitas akan menjadi lebih parah lagi apabila ada jamur pencemar penghasil aflatoxin (*Aspergillus flavus*), sehingga membahayakan ternak yang mengonsumsi pakan tersebut (Hedayati *et al.*, 2007). Aflatoxin merupakan metabolit sekunder yang terbentuk setelah fase pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* (Winarno, 2008).

Menurut Ahmad (2009), 41,6% makanan berbahan baku jagung dan melinjo yang dijual di pasar dan swalayan, terkontaminasi aflatoxin. Hal serupa juga dilaporkan oleh Dharmaputra *et al.* (2003), menguji 35 sampel jagung memperoleh hasil bahwa 100% sampel tercemar oleh aflatoxin B₁ dan 31% diantaranya mengandung aflatoxin B₂ dengan total cemaran berkisar 48,10 sampai 213,80 ppb.

Saat ini terindikasi ada 4 jenis aflatoxin (aflatoxin B₁, B₂, G₁ dan G₂) dan aflatoxin B₁ merupakan jenis yang paling toksik dan bersifat karsinogen. Oleh karena itu, aflatoxin B₁ ini disepakati sebagai indikator ambang batas maksimum yang diperoleh ada dalam formulasi pakan ternak (Winarno, 2008). *Food and Agriculture Organization* menetapkan batas aflatoxin yang diizinkan dalam produk makanan dan susu berurut-turut sebesar 30

part per billion (ppb) dan 0,5 ppb (FAO, 2001). Di Indonesia, total aflatoxin maksimum yang diperbolehkan sebesar 35 ppb dan khusus untuk AFB₁ batas maksimum yang diperbolehkan sebesar 20 ppb (Dharmaputra *et al.*, 2003).

Berbagai usaha penanggulangan masalah aflatoxin, termasuk melalui pendekatan kimia, telah diusahakan, namun belum memberikan hasil yang memuaskan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini pendekatan biologi dilakukan dengan menggunakan antagonis (Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari yogurt dan kefir). Beberapa penelitian terdahulu, seperti yang dilakukan oleh Kusumawati (2003) menunjukkan bahwa *Lactobacillus* sp. yang diisolasi dari produk pangan fungsional yang mengandung probiotik dapat menghambat *E. coli*, *S. typhimurium* dan *S. enteridis*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari potensi BAL yang diisolasi dari yogurt dan kefir dalam mengontrol pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 (kontaminan pakan konsentrat ayam) sehingga palabilitas dan keamanan pakan ayam dapat ditingkatkan.

MATERI DAN METODE

Isolasi *Lactobacillus* sp. dari sampel yogurt dan kefir

Isolasi BAL dari yogurt dan kefir dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran dan metode sebar pada medium *deMann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) yang telah berisi indikator *Bromo Creso Purple* (BCP 1%), seperti yang dilakukan oleh Sujaya *et al.* (2008). Koloni berwarna putih susu yang tumbuh pada permukaan medium ini dimurnikan dan disimpan pada suhu -20⁰C dalam MRS broth mengandung 30% gliserol sampai diperlukan dalam penelitian selanjutnya.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram pada BAL dilakukan dengan menerapkan metode seperti yang dilakukan oleh Ariningsih *et al.* (2017), isolat murni yang berumur 24 jam dan diapuskan pada *object glass* yang telah diisi 1 tetes air steril, diwarnai dengan kristal violet selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir, ditetesi dengan lugol diamkan selama 1 menit, dicuci air

mengalir selama 5 detik, ditetesi alkohol 95% dan dicuci kembali dengan air mengalir sebelum diwarnai dengan safranin selama 1 menit. Setelah 1 menit object glass dicuci, dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.

Uji ketahanan bakteri asam laktat terhadap pH rendah

Uji ketahanan isolat BAL terhadap pH rendah dilakukan dengan menggunakan MRS broth yang pHnya diatur menjadi 2, 3 dan 4 unit pH seperti yang dilakukan oleh Ramona (2003). Pertumbuhan isolat BAL pada medium ini dibaca dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm. Kriteria pertumbuhan ditetapkan berdasarkan tingkat kekeruhan suspensi, seperti yang ditetapkan oleh Sujaya *et al.* (2008) dan Ramona (2003).

Uji ketahanan bakteri asam laktat terhadap sodium deoksikolat (NaDC)

Uji ketahanan BAL terhadap NaDC dilakukan dalam medium MRS broth yang telah ditambahkan NaDC dengan konsentrasi bervariasi antara 0 mM sampai 0,6 mM dengan kenaikan interval sebesar 0,2 mM. Metode yang digunakan seperti yang diterapkan oleh Sujaya *et al.* (2008), dan hasilnya dibaca pada panjang gelombang 660 nm.

Bioassay supernatan *Lactobacillus* sp. terhadap *A. flavus* FNCC6109

Bioassay *In vitro* dilakukan dengan menerapkan metode Kirby and Bauer (1969), dengan sedikit modifikasi pada media Potato Dextrosa Agar (PDA). Sebanyak 20 μ L supernatan *Lactobacillus* sp. dimasukkan ke dalam sumur difusi yang telah dibuat pada medium PDA dalam cawan Petri yang telah diinokulasikan dengan *A. flavus* FNCC6109 diinkubasi pada suhu 28⁰C selama 24-72 jam dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk. Sumur yang hanya ditambahkan medium MRS broth steril berfungsi sebagai kontrol.

Efikasi supernatan *Lactobacillus* sp. dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 pada pakan konsentrat ayam

Uji ini dilakukan di dalam 7 botol plastik steril yang masing-masing diisi sebanyak 10 g pakan konsentrat. Botol plastik pertama sebagai kontrol yang diisi pakan konsentrat saja sebanyak 10 g. Botol plastik kedua diisi dengan pakan ternak yang ditambahkan 1 mL suspensi spora *A. flavus* FNCC6109. Botol ketiga sampai ketujuh, ditambahkan pakan ternak dan 1 mL spora *A. flavus* FNCC6109, kemudian ditambahkan supernatan BAL dengan konsentrasi yang bervariasi, sehingga diperoleh persentase supernatan BAL terhadap volume sebesar 10 sampai 30%, dengan interval kenaikan sebesar 5%. Semua perlakuan dan kontrol diinkubasi pada suhu 28⁰C selama 15 hari dan dilakukan penghitungan populasi *A. flavus* dengan menggunakan metode pengenceran dan sebar pada media PDA.

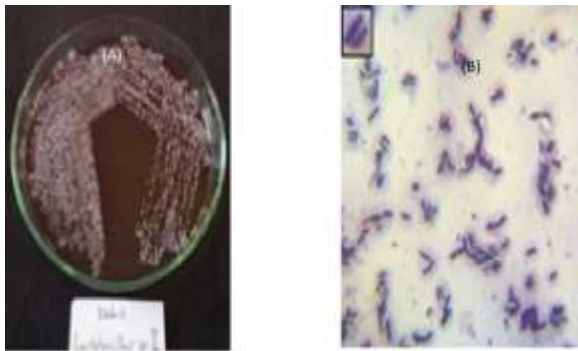
HASIL

Isolasi *Lactobacillus* sp. dari produk yogurt dan kefir

Penelitian ini diperoleh 2 isolat potensial BAL yang ditunjukkan dalam Gambar 1 dan 2. Keduanya teridentifikasi sebagai *Lactobacillus* sp. dengan ciri-ciri warna koloni putih susu, bentuk koloni *circular*, permukaan koloni halus mengkilap, elevasi *rise*, tepi koloni *entire*, Gram positif dan memiliki bentuk tipe *diplobacilli*.



Gambar 1. (A) Morfologi koloni isolat *Lactobacillus* sp. I pada media MRSA + BCP diinkubasi pada suhu 28⁰C selama 48 jam; (B) Hasil pengamatan mikroskopis bentuk sel serta uji Gram isolat *Lactobacillus* sp. I dibawah mikroskop perbesaran 1000 \times



Gambar 2. (A) Morfologi koloni isolat *Lactobacillus* sp. II pada media MRSA + BCP diinkubasi pada suhu 28⁰C selama 48 jam; (B) Hasil pengamatan mikroskopis bentuk sel serta uji Gram isolat *Lactobacillus* sp. II dibawah mikroskop perbesaran 1000×

Uji ketahanan BAL isolat yogurt dan kefir terhadap pH asam dan sodium deoksikolat (NaDC)

Tabel 1 dan 2 menunjukkan ketahanan BAL yang diisolasi dari yogurt dan kefir terhadap lingkungan pH rendah dan sodium deoksikolat (NaDC) yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan kedua isolat BAL tersebut tumbuh pada suasana yang ekstrim saluran pencernaan bagian atas.

Tabel 1. Hasil uji ketahanan Bakteri Asam Laktat terhadap pH rendah

Isolat <i>Lactobacillus</i> sp.	Lama waktu inkubasi	Indikasi Pertumbuhan <i>Lactobacillus</i> sp. (Absorbansi OD 660 nm)			
		pH 6,5	pH 4	pH 3	pH 2
Sp. I (Yogurt)	24 jam	+++	+++	+++	-
	36 jam	+++	+++	+++	+
	48 jam	+++	+++	+++	+
	72 jam	+++	+++	+++	++
Sp. II (Kefir)	24 jam	+++	+++	+++	-
	36 jam	+++	+++	+++	-
	48 jam	+++	+++	+++	+
	72 jam	+++	+++	+++	+

Keterangan: - = A < 0,1 (tidak tahan asam)
 + = A 0,1 – 0,5 (sedikit tahan asam)
 ++ = A 0,5 – 1,0 (tahan asam)
 +++ = A > 1,0 (sangat tahan asam)

Tabel 1 tampak kedua isolat tahan hidup pada kisaran pH 2-6,5 dan Tabel 2 menunjukkan kedua isolat hanya bertahan sampai konsentrasi NaDC sebesar 0,4 mM.

In vitro Bioassay supernatan *Lactobacillus* sp. terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus* FNCC6109

Tabel 3 dan Gambar 3 menunjukkan hasil zona hambat supernatan kedua isolat BAL terhadap pertumbuhan *A. flavus* yang terbentuk berkisar antara 0 cm sampai 2,9 cm, tergantung pada jenis isolat, waktu inkubasi dan konsentrasi supernatan.



Gambar 3. Zona hambat supernatan isolat BAL terhadap *A. flavus* FNCC6109

Keterangan: A. Kontrol; B. Supernatan *Lactobacillus* sp. I; C. Supernatan *Lactobacillus* sp. II. Keterangan; a. Kontrol negatif (air steril); b. Kontrol positif (Nistatin 11%); c. Zona hambat supernatan yang diinkubasi 24 jam; d. Zona hambat supernatan yang diinkubasi 36 jam; e. Zona hambat supernatan yang diinkubasi 48 jam; f. Zona hambat supernatan yang diinkubasi 72 jam.

Tabel 2. Hasil uji ketahanan Bakteri Asam Laktat terhadap sodium deoksikolat

Isolat <i>Lactobacillus</i> sp.	Lama waktu inkubasi	Indikasi Pertumbuhan <i>Lactobacillus</i> sp. (Absorbansi OD 660 nm)		
		NaDC 0,2 Mm	NaDC 0,4 mM	NaDC 0,6 mM
Sp. I (Yogurt)	24 jam	+	+	-
	36 jam	++	+	-
	48 jam	++	+	-
	72 jam	+++	+	-
Sp. II (Kefir)	24 jam	++	+	-
	36 jam	++	+	-
	48 jam	++	+	-
	72 jam	+++	++	-

Keterangan: - = A < 0,1 (tidak tahan NaDC)
 + = A 0,1 – 0,5 (sedikit tahan NaDC)
 ++ = A 0,5 – 1,0 (tahan NaDC)
 +++ = A > 1,0 (sangat tahan NaDC)

Tabel 3. Rata-rata diameter zona hambat supernatan *Lactobacillus* sp. terhadap pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 pada masa inkubasi berbeda

Isolat <i>Lactobacillus</i> sp.	Lama Inkubasi	Hambatan (cm)
Sp.I (Yogurt)	Kontrol (-)	0,00±0,00 ^a
	Kontrol (+)	2,90,±0,00 ^b
	24 jam	0,00±0,00 ^a
	36 jam	0,66±0,03 ^c
	48 jam	0,90±0,03 ^d
	72 jam	1,07±0,04 ^e
Sp. II (Kefir)	Kontrol (-)	0,00±0,00 ^a
	Kontrol (+)	2,90,±0,00 ^b
	24 jam	0,00±0,00 ^a
	36 jam	0,80±0,09 ^c
	48 jam	0,83±0,40 ^c
	72 jam	0,92±0,30 ^d

*Nilai-nilai ± standar deviasi pada Tabel merupakan rerata dari 5 ulangan. Nilai-nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P \leq 0,05$), berdasarkan uji Duncan setelah dilakukan analisis sidik ragam (ANOVA).

Efikasi Supernatan *Lactobacillus* sp. I dalam menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus* FNCC6109 pada pakan konsentrat ayam

Tabel 4 menunjukkan populasi *A. flavus* FNCC6109 pada pakan konsentrat yang ditambahkan 30% supernatan sebelum dan setelah penyimpanan 15 hari berturut-turut

sebesar $4,7 \times 10^5$ CFU/g dan $6,4 \times 10^5$ CFU/g, lebih kecil dibandingkan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25% dan kontrol positif. Penambahan supernatan 30% menurunkan laju pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 sebesar 72%.

Tabel 4. Jumlah populasi *A. flavus* FNCC6109 pada pakan konsentrat ayam yang ditambahkan supernatan *Lactobacillus* sp. I

Perlakuan	Rata-Rata Jumlah Populasi <i>Aspergillus flavus</i> FNCC6109 (CFU/g)		% Peningkatan Populasi <i>Aspergillus flavus</i> FNCC6109
	Populasi Sebelum Penyimpanan (T ₀) $\times 10^5$	Populasi Sesudah Penyimpanan (T ₁₅) $\times 10^5$	
A0B0	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a
A1B0	28,4±1,45 ^f	60,4±0,68 ^g	113±13,01 ^b
A1B1	12,8±2,33 ^e	21,6±0,81 ^f	73±0,40 ^a
A1B2	10,3±0,65 ^d	16,5±0,83 ^e	61±0,16 ^a
A1B3	9,2±1,15 ^d	13,5±1,20 ^d	48±0,21 ^a
A1B4	7,2±0,30 ^c	10,4±0,70 ^c	45±0,03 ^a
A1B5	4,7±0,72 ^b	6,4±0,65 ^b	41±33,98 ^a

*Nilai-nilai ± standar deviasi pada Tabel 4 merupakan rerata dari 3 ulangan. Nilai-nilai yang diikuti oleh huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang

berbeda nyata ($P \leq 0,05$), berdasarkan uji Duncan setelah dilakukan analisis sidik

PEMBAHASAN

Karakteristik morfologi, pewarnaan Gram dan uji-uji biokimia ditunjukkan oleh isolat yang berhasil diisolasi dari yogurt dan kefir serupa dengan karakteristik bakteri *Lactobacillus* seperti yang dilaporkan oleh Gamal *et al.* (2018), berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi *L. lactis* dan *L. bulgaricus*. Karakteristik ini juga diperkuat oleh Holt *et al.* (2000) dalam buku *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Selain karakteristik tersebut, *Lactobacillus* sp. II juga menunjukkan sifat resisten terhadap sodium deoksikolat (NaDC) sampai konsentrasi 0.4 mM (Tabel 2). Hasil ini memberi keuntungan bila BAL diaplikasikan sebagai sel hidup, karena hidup disepanjang saluran cerna. Data Tabel 2 juga

menunjukkan semua isolat tidak dapat tumbuh pada konsentrasi 0.6 mM. Menurut Farida (2006), penurunan jumlah koloni pada konsentrasi NaDC lebih tinggi disebabkan oleh sifat asam empedu yang bersifat lipofilik. Sifat lipofilik menyebabkan terjadinya kerusakan struktur membran hingga menyebabkan kematian sel. Kematian BAL pada lingkungan yang mengandung NaDC disebabkan kegagalan sel mempertahankan permeabilitas membran setelah terpapar asam empedu ini. Menurut Farida (2006), kematian sel yang terpapar NaDC disebabkan peningkatan aktivitas enzim β -galactosidase terhadap asam empedu. Peningkatan aktivitas enzim ini secara berlebihan meningkatkan kecepatan difusi molekul nutrien yang berakibat terekstraksinya materi intraseluler, seperti sitoplasma dan

ribosom, sehingga sel mengalami lisis hingga kematian sel (Kusumawati, 2003).

Penggunaan BAL sebagai agen biokontrol memerlukan karakteristik tahan terhadap pH rendah. Tabel 1 menunjukkan sifat resisten isolat bakteri *Lactobacillus* sp. I dan *Lactobacillus* sp. II yang mampu bertahan hidup dan tumbuh pada medium pH 3 dan 4 setelah diinkubasi selama 24 jam, 36 jam, 48 jam dan 72 jam. Pada pH 2, isolat *Lactobacillus* sp. I mulai tumbuh setelah diinkubasi selama 36 jam, sedangkan isolat *Lactobacillus* sp. II setelah 48 jam inkubasi. Kemampuan BAL untuk bertahan hidup pada kondisi asam disebabkan oleh kemampuan bakteri ini untuk mengaktifkan pompa protonnya sehingga kondisi pH didalam sel selalu lebih tinggi daripada pH lingkungan hidupnya (Hutkins dan Nannen, 1993).

Dalam bioassay (difusi agar), supernatan isolat *Lactobacillus* sp. yang diisolasi dari yogurt dan kefir mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 (Tabel 3 dan Gambar 3). Secara rata-rata supernatan isolat *Lactobacillus* sp. I lebih efektif menghambat pertumbuhan *A. flavus* dibandingkan dengan supernatan *Lactobacillus* sp. II. Setelah inkubasi 72 jam, besarnya rerata diameter zona hambat yang terbentuk berturut-turut oleh isolat I dan II adalah $1,07 \pm 0,04$ cm dan $0,92 \pm 0,30$ cm. Mekanisme terbentuknya zona hambat pada bioassay tidak dielusidasi dalam penelitian ini. Beberapa peneliti, seperti (Ghonaimy *et al.*, 2007) dan (Aryantha dan Lunggani, 2007) menyebutkan proses penghambatan pertumbuhan jamur oleh supernatan disebabkan oleh produksi asam, antibiotik, sideropore, atau enzim hidrolitik yang tersuspensi dalam supernatan. Inkubasi yang diperpanjang selama 7 hari pada hasil bioassay tidak mengurangi diameter zona hambat *A. flavus* FNCC6109, menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam supernatan bersifat fungisidal.

Beberapa penelitian serupa menggunakan isolat mikroba lain juga banyak dilaporkan oleh peneliti lain, dengan kecenderungan hasil yang serupa. Ghonaimy *et al.* (2007), melaporkan bahwa supernatan *L. acidophilus* ATCC4495

dengan konsentrasi 100% menghambat *A. flavus* dengan diameter zona hambat sebesar 1,15 cm. Sedangkan, supernatan *L. acidophilus* ATCC20552 dengan konsentrasi 100% mampu menghambat *A. flavus* dengan diameter zona hambat sebesar 1,05 cm. Dalam penelitian Gamal *et al.* (2018), mengidentifikasi senyawa aktif anti jamur yang dihasilkan oleh isolat *Lactobacillus* sp. berupa *methylhydantoin* dan *cyclic dipeptides cyclo*. Senyawa aktif ini ditemukan berperan menghambat produksi aflatoxin oleh *A. flavus* dan *A. parasiticus*.

Hasil pada Tabel 3 menunjukkan indikasi awal yang baik tentang potensi BAL isolat I dan II untuk dikembangkan menjadi agen biokontrol pada pertumbuhan *A. flavus* yang sering mengkontaminasi makanan ternak, walaupun masih perlu dilakukan kajian yang lebih mendalam dan komprehensif. Data Tabel 3 juga dipakai sebagai dasar untuk memilih isolat I untuk uji-uji selanjutnya pada penelitian ini, karena menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan isolat II.

Perlakuan supernatan isolat *Lactobacillus* sp. I dengan konsentrasi yang bervariasi pada pakan konsentrat ayam memberikan hasil serupa dengan percobaan *in vitro* (Tabel 4). Dalam percobaan ini, semua konsentrasi supernatan yang diberikan dapat menekan pertumbuhan populasi *A. flavus* pada pakan, perlakuan dengan konsentrasi supernatan sebesar 30% (v/v) memberikan hasil paling baik dengan persentase penekanan sebesar 41%. Pada perlakuan lain persentase penekanan pertumbuhan populasi *A. flavus* berkisar antara 73% sampai 45% (Tabel 4). Pengendalian populasi *A. flavus* pada pakan ternak juga dilaporkan Darmayasa (2015), pemberian filtrat kultur *Trichoderma asperellum* TKD dengan konsentrasi 9mL/100g mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 sebesar 74,93% pada model pakan konsentrat, dengan penyimpanan selama 30 hari.

KESIMPULAN

Berdasarkan diskusi atau pembahasan, disimpulkan isolat yang diperoleh dari yogurt dan kefir teridentifikasi sebagai *Lactobacillus* sp. I dan sp. II mampu menghambat

pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 *in vitro* dan pengujian langsung pada pakan konsentrat ayam. Supernatan *Lactobacillus* sp. I dan sp. II mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 *In vitro* dengan persentase hambatan bervariasi sesuai dengan konsentrasi dan lama inkubasi. Perlakuan supernatan *Lactobacillus* sp. I dengan konsentrasi 30% (v/v) pada pakan konsentrat ayam mampu menekan pertumbuhan *A. flavus* FNCC6109 sebesar 72% relatif terhadap kontrol (pakan yang diinokulasi dengan *A. flavus* FNCC6109 tanpa perlakuan supernatant).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Ir. Sri Anggreni Lindawati, M.Si. yang telah memberikan izin untuk menggunakan alat KIT API 50CH di Lab. Teknologi Hasil Ternak dan Mikrobiologi, F. Peternakan, Universitas Udayana.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariningsih, I. A. K., Y. Ramona dan N. S. Antara. 2017. Isolation, Screening, and Characterization of Probiotics (Lactic Acid Bacteria) Antagonistic Against *Candida albicans*
- Ahmad, R. Z. 2009. Cemaran Jamur pada Pakan dan Pengendaliannya. *Jurnal Litbang Pertanian*. 28(4): 15-22.
- Aryantha, I. N. P. dan A. T. Lunggani. 2007. Suppression on the Aflatoxin-B Production and Growth of *Aspergillus flavus* by Lactic Acid Bacteria. *Journal of Biotechnology*. 6(2): 257-262.
- Dharmaputra, O. S., A. S. R. Putri, I. Retnowati, dan S. Saraswati. 2003. Penggunaan *Trichoderma harzianum* untuk Mengendalikan *Aspergillus flavus* Penghasil Aflatoxin pada Kacang Tanah. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 7(1): 28-37.
- Darmayasa, I.B.G. 2015. Potensi *Trichoderma asperellum* TKD dalam Menghambat Pertumbuhan *Aspergillus flavus* FNCC6109 sebagai Upaya Mengurangi Cemaran Aflatoxin B1 pada Model Konsentrat. *Doctoral Disertasi*. Universitas Udayana.
- FAO. 2001. Joint FAO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Cordoba. Argentina.
- Farida, E. 2006. Seleksi Pengujian Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Hasil Isolat Lokal serta Kemampuannya dalam Menghambat Sekresi Interleukin-8 dari Alur Sel HTC 116. Tesis. Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Gamal, M. M, E. M. Abdel-Wahed, K. B. Al-Harby dan K.Zahar. 2018. Bacteriocin Substances Produced by Specific Strains of Lactic Acid Bacteria Isolated from Milk Products. *Journal of Microbiology*. 13(2): 70-83.
- Ghonaimy G. A., A. A. M. Yonnis., dan M. F. Abola-Ela. 2007. Inhibition of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* Fungal Growth and its Aflatoxins Production by *Lactobacillus acidophilus*. *Journal Egypt. Soc. Toxicol* 37(1): 53-60.
- Hedayati, M. T., A. C. Pasqualloto, P. A. Warn, P. Bowyer, and D.W. Denning. 2007. *Aspergillus flavus*: Human Pathogen, Allergen and Mycotoxin Producer. *Journal of Microbial*. 153(1): 1677-1692.
- Holt, J. G., N. R. Kreig., P. H. A. Sneath., J. T. Staley and S. T. Williams. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eds. Ke-9. USA. Waverly Press Inc.
- Hutkins, R. W, and N. L. Nannen. 1993. pH Homeostatis in Lactic Acid Bacteria. *Journal Dairy Science*. 76: 2354-2365
- Kirby, W. M. M., A. W. Bauer., J. C Sherris, and M. Turck. 1996. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized

- Single Disk Method. *American Journal Clinical an Pathology*. 45: 493-496.
- Kusumawati, N. 2003. Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenus Galur Probiotik dengan Kemampuan Menurunkan Kolesterol. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 8(2): 39-43.
- Ningsih, R., dan Prabowo, D.W. 2017. Tingkat Integrasi Pasar Ayam Broiler di Sentra Produksi Utama: Studi Kasus Jawa Timur Dan Jawa Barat. *Buletin Ilmiah Litbang Perdagangan*, VOL.11(2): 247 – 270.
- Rachmawati, S. 2005. Aflatoksin dalam Pakan Ternak di Indonesia: Persyaratan Kadar dan Pengembangan Teknik Deteksinya. Balai Penelitian Veteriner. *Jurnal Wartazoa*. 15(1): 9-11.
- Ramona, Y. 2003. Assessment of Some Antagonists to Fungal Plant Pathogens and Development of Methods for Their Large Scale Cultivation. School of Agricultural Science the University of Tasmania Australia. (Tesis). Tidak Dipublikasikan.
- Sujaya, I. N., Y. Ramona., N.S. Antara dan N.W. Nursini. 2008. Manual kerja teknik dasar biologi molekuler. UPT Laboratorium Terpadu Biosain dan Bioteknologi. Bali. Universitas Udayana.
- Winarno, F.G. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi Edisi terbaru*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Yulien, T. F. 2012. Analisis Pendapatan dan Persepsi Peternak Unggas Plasma Terhadap Kontrak Perjanjian Pola Kemitraan Ayam Pedaging di Provinsi Lampung. *Jurnal Universitas Gadjah Mada*. 36 (1): 1-6.