

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Probiotik

Probiotik adalah mikroba hidup yang digunakan sebagai pakan imbuhan dan dapat menguntungkan inangnya dengan meningkatkan keseimbangan mikrobial pencernaannya. Pemberian mikroba hidup tersebut dalam jumlah yang cukup dapat mempengaruhi komposisi dan ekosistem mikroflora pencernaannya (Fuler, 1989).

Probiotik bila dikonsumsi dapat meningkatkan kesehatan manusia ataupun ternak dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan. Penggunaan probiotik dalam ransum unggas terbukti dapat meningkatkan kinerja ayam niaga pedaging dan petelur (Iriyanti dan Rimbawanto, 2001).

Sumber probiotik dapat berupa bakteri atau kapang yang berasal dari mikroorganisme saluran pencernaan hewan. Beberapa bakteri yang telah digunakan sebagai probiotik yaitu *Lactobacillus* dan *Bacillus subtilis*, sedangkan jamur atau kapang yang digunakan sebagai probiotik adalah *Saccharomyces cereviceae* dan *Aspergillus oryzae* (Lopez, 2000).

Probiotik memperbaiki keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan (Daud *et al*, 2007). Sebagian besar bakteri yang digunakan

sebagai probiotik adalah bakteri *Lactobasillus* sp., *Basillus* sp. dan Bakteri Asam Laktat (BAL) (Saxelin, 1997). *Lactobasillus* sp. dapat menjaga keseimbangan populasi bakteri yang menguntungkan dalam usus halus. *Lactobasillus* sp. dapat mereduksi asam empedu sehingga mampu menurunkan pH di dalam usus. Dalam kondisi yang asam maka bakteri patogen akan mati sehingga nutrisi di dalam usus dapat terserap secara maksimal (Fuller, 1992).

Probiotik akan bekerja sama dalam menurunkan kadar lemak dalam tubuh ayam. Probiotik memproduksi enzim *Bile Salt Hydrolise* (BSH) yang dapat mendekongugasi garam empedu. BSH mengakibatkan empedu terkonjugasi dan dibuang melalui feses bersama-sama kolesterol sehingga menyebabkan kadar kolesterol berkurang (Sunarlim, 2009). Pemberian *Lactobacillus* untuk menurunkan kadar kolesterol dapat melalui beberapa mekanisme.

Menurut (Lee *et al*, 2009), terdapat beberapa mekanisme penurunan kolesterol oleh aktivitas BAL. Mekanisme pertama yaitu produk hasil fermentasi oleh BAL menghambat sintesis kolesterol sehingga menurunkan produksi kolesterol. Mekanisme kedua adalah melalui pembuangan garam empedu melalui feses, di mana garam empedu yang terdekongugasi tidak diserap oleh usus dan lebih mudah terbuang dari saluran pencernaan dibandingkan dengan garam empedu yang terkonjugasi. Hal ini mengakibatkan semakin banyak kolesterol yang dibutuhkan untuk mensintesis garam empedu lagi sehingga akan menurunkan kadar kolesterol. Mekanisme ketiga adalah kemampuan BAL untuk mengikat kolesterol

sehingga mencegah penyerapan kolesterol kembali ke hati (Lee, *et al*, 2009). Beberapa jenis BAL memiliki dinding sel yang mampu mengikat kolesterol dalam usus halus sebelum kolesterol diserap oleh tubuh (Surono, 2004).

Mekanisme penurunan kolesterol oleh aktivitas BAL disebabkan oleh enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH) yang mendekongugasi garam empedu, di mana glisin atau taurin dipisahkan dari steroid sehingga menghasilkan garam empedu bebas atau terdekongugasi. Enzim BSH menghasilkan garam empedu terdekongugasi dalam bentuk asam kolat bebas yang kurang diserap oleh usus halus. Dengan demikian, garam empedu yang kembali ke hati selama sirkulasi enterohepatik menjadi berkurang sehingga total kolesterol dalam tubuh menjadi berkurang. *Bile Salt Hydrolase* dimiliki oleh beberapa strain bakteri saluran pencernaan seperti: *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, dan *Bacteroides* (Surono, 2004).

Probiotik juga mampu mensintesis enzim esterase bersamaan dengan enzim lipase yang merubah asam lemak bebas menjadi bentuk ester yang berbeda dari trigliserida pada saluran pencernaan (Mahdavi *et al*, 2005). Selain itu, probiotik bisa menurunkan trigliserida karena kemampuannya memfermentasikan karbohidrat dan menghasilkan asam lemak rantai pendek dalam saluran pencernaan karena sebagaimana kita ketahui bahwa salah satu penyebab meningkatnya trigliserida bila makanan sehari-hari mengandung karbohidrat yang berlebihan (Ljung *et al*, 2005).

Pemberian probiotik pada ayam menurunkan lemak karkas dan menurunkan trigliserida karena probiotik secara efektif bisa menurunkan aktivitas *acetyl coenzim A carboxylase* yaitu enzim yang berperan dalam laju sintesis asam lemak. Menurunnya kadar trigliserida juga disebabkan oleh meningkatnya populasi dari bakteri asam laktat dalam saluran pencernaan (Santoso *et al*, 1995).

Shin *et al*, (1989) menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* termasuk salah satu mikroba yang umum dipakai untuk ternak sebagai probiotik bersama-sama dengan bakteri dan cendawan lainnya seperti *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus centuss*, *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces crimers*, *Streptococcus lactis*, dan *S. termophilus*. Penggunaan "khamir (ragi) laut" dengan *S. cerevisiae* di dalam pakan ayam akan mendapatkan hasil yang positif yaitu meningkatnya bobot badan setelah pemberian *S. cerevisiae* (Kompiang , 2002).

Penelitian lain oleh Asli *et al* ( 2007) tentang probiotik yeast *S cerevisiae* yang dikombinasikan dengan vitamin E dan C membuktikan bahwa terjadi peningkatan titer antibody dibandingkan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa probiotik tersebut mampu meningkatkan daya tahan tubuh unggas.

Chen *et al*, (2005) melaporkan bahwa penambahan oligofruktosa dan inulin dari chikori sebesar 1% pada ransum ayam petelur dapat meningkatkan produksi telur dan efisiensi pakan serta menurunkan kolesterol kuning telur.

Beberapa probiotik diketahui dapat menghasilkan enzim pencernaan seperti amilase, protease, dan lipase yang dapat meningkatkan konsentrasi enzim pencernaan pada saluran pencernaan inang sehingga dapat meningkatkan perombakan nutrient. Berbagai jenis mikroorganisme yang digunakan sebagai probiotik diisolasi dari isi usus pencernaan, mulut, dan kotoran ternak atau manusia (Haryati, 2011).

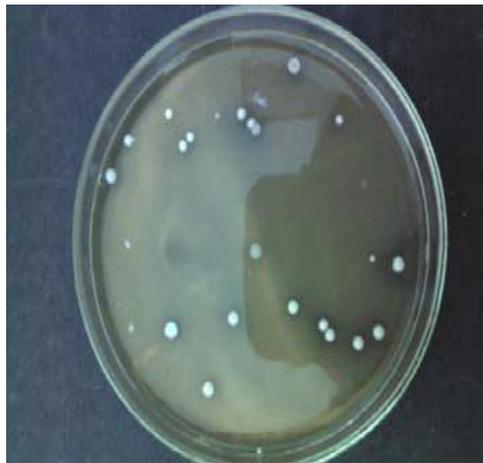
Beberapa kriteria yang harus diperhatikan untuk menentukan strain mikroba sebagai probiotik adalah (1) mampu melakukan aktivitas fermentasi susu dalam waktu yang cepat, (2) mampu menggandakan diri, (3) tahan terhadap suasana asam, (4) menghasilkan produk akhir yang dapat diterima konsumen, dan (5) mempunyai stabilitas yang tinggi (Surono, 2004).

Menurut Fuller (1992), efek kesehatan yang menguntungkan dari probiotik adalah (1) memperbaiki keluhan laktosa intolerance, (2) meningkatkan ketahanan alami terhadap infeksi usus; (3) menghambat pertumbuhan kanker (4) mengurangi kadar kolesterol darah, (5) memperbaiki pencernaan, dan (6) stimulasi imunitas gastrointestinal.

## **2.2 *Saccharomyces Cerevisiae***

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh bahwa *Saccharomyces sp.* memiliki ciri-ciri yaitu koloni berbentuk bulat, dengan warna kekuning-kuningan, permukaan licin dan berkilau (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa genus *Saccharomyces sp.* memiliki karakteristik sesuai dengan pendapat Ahmad (2008) menyatakan bahwa penampilan makroskopik mempunyai koloni berbentuk bulat, warna kuning muda, permukaan berkilau, licin, tekstur lunak,

dan memiliki sel bulat dengan askospora 1-- 8 buah. Ditambahkan Ahmad (2008) bahwa morfologi makroskopik menunjukkan koloni berbentuk bulat, berwarna putih, krem, abu-abu hingga kecoklatan, permukaan koloni berkilau sampai kusam, licin, dengan tekstur lunak.



Gambar 1. Koloni *Saccharomyces sp.*

*S. cerevisiae* tergolong cendawan berupa khamir (yeast) pembuat kue dan roti ternyata mempunyai potensi kemampuan yang tinggi sebagai imunostimulan dan bagian yang bermanfaat tersebut adalah dinding selnya yang mengandung 1,3 dan 1,6 glukukan . Bahan inilah yang dipakai sebagai imunostimulan setelah berhasil dipisahkan pada bagian dinding sel *S. cerevisiae* (Life Source Basic, 2002) . Komponen tersebut mempunyai sebuah campuran unik dengan efektivitas dan intensitasnya sebagai suatu sistem pertahanan tubuh melalui aktivasi sel darah putih yang spesifik seperti makrofag dan sel NK (natural killer) . Beta-D glukukan akan berikatan dengan permukaan sel makrofag dan sel NK dan berfungsi sebagai triger untuk proses aktivasi makrofag . Hasil proses ini berupa peningkatan sirkulasi makrofag di dalam tubuh untuk mencari benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh, selain itu pula untuk

meningkatkan jumlah sel-sel makrofag . Pada khamir di bagian tertentu dapat dijadikan imunostimulan (Life Source Basic, 2002) .

### 2.3 *Rhizopus sp.*

*Rhizopus sp.* memiliki ciri-ciri yaitu koloni berwarna putih abu-abu, rhizoid berwarna putih, spora yang berbentuk bulat atau setengah bulat dan hifa tidak bersekat, hal ini menunjukkan termasuk karakteristik dari genus *Rhizopus sp.* (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan pendapat Masniawati (2013) yang menyatakan bahwa *Rhizopus* memiliki hifa yang senositik yaitu memiliki banyak inti sehingga hifanya tidak bersekat dan umumnya koloninya berwarna abu-abu, hifa tidak bersepta dan mempunyai stolon serta rhizoid yang warnanya gelap jika sudah tua. Andayani (2008) mengemukakan bahwa jamur tempe sorgum termasuk genus *Rhizopus sp.* karena memiliki ciri-ciri terdapat rhizoid dan bentuk misellium seperti kapas, warna koloni jamur abu-abu kecoklatan, bentuk sporangia bulat, warna sporangia abu-abu kecoklatan, dan mempunyai spora tunggal.



Gambar 2. Koloni *Rhizopus sp.*

Jamur *Rhizopus oryzae* aman dikonsumsi karena tidak menghasilkan toksin dan mampu menghasilkan asam laktat (Purwoko dan Pamudyanti, 2004). Jamur ini mempunyai kemampuan menguraikan lemak kompleks menjadi trigliserida dan asam amino (Septiani, 2004).

#### **2.4 *Bacillus sp.***

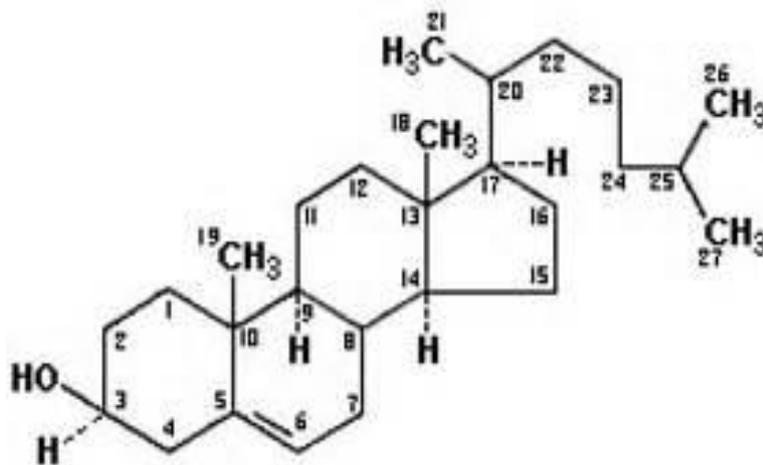
*Bacillus sp.* adalah bakteri gram positif yang berbentuk batang dan dapat tumbuh pada kondisi *aerob* dan *an aerob* (Afiesh, 2012). Menurut Haetami *et al.* (2008) *Bacillus sp.* merupakan salah satu jenis bakteri yang diyakini mampu untuk meningkatkan daya cerna. Menurut hasil penelitian Maulida (2014), bakteri *Bacillus sp* dalam inokulum probiotik dapat membantu kapang menyediakan nutrisi bagi kapang karena *Bacillus sp.* dapat menghasilkan enzim-enzim hidrolitik seperti *amilase*, *protease*, dan *selulase* yang menyederhanakan polimer menjadi monomer yang lebih mudah diserap di dalam saluran pencernaan. Pemberian probiotik *Bacillus sp.* dapat mempengaruhi anatomi usus. Secara makroskopis, usus ayam menjadi lebih panjang dan secara mikroskopis probiotik mempengaruhi densitas dan panjang villi. Pada ayam yang diberikan probiotik memiliki permukaan usus yang lebih luas untuk menyerap nutrisi. *Bacillus sp.* mampu mengeluarkan basitrasin yang dapat membunuh bakteri patogen, kondisi ini dapat meningkatkan penyerapan nutrisi (Kompiang, 2009).

#### **2.5 Kolesterol**

Kolesterol terdapat di dalam jaringan dan lipoprotein plasma yang bisa dalam bentuk kolesterol bebas atau gabungan dengan asam lemak rantai panjang

sebagai ester kolesterol. Unsur ini disintesis di banyak jaringan dari asetil-KoA dan akhirnya dikeluarkan dari tubuh di dalam empedu sebagai garam kolesterol atau empedu. Kolesterol merupakan prekursor senyawa steroid lainnya di dalam tubuh, seperti kortikosteroid, hormon seks, asam empedu, dan vitamin D. Kolesterol secara khas adalah produk metabolisme hewan dan karenanya terdapat di makanan yang berasal dari hewan seperti kuning telur, daging, hati, dan otak (Murray *et al*, 2003).

Kolesterol banyak terdapat pada membran sel. Kolesterol berwarna putih dan bersifat larut dalam air (Hofmann, 2004). Adapun rumus bangun kolesterol dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 3. Struktur Molekul Kolesterol (Ariyani, 2006)

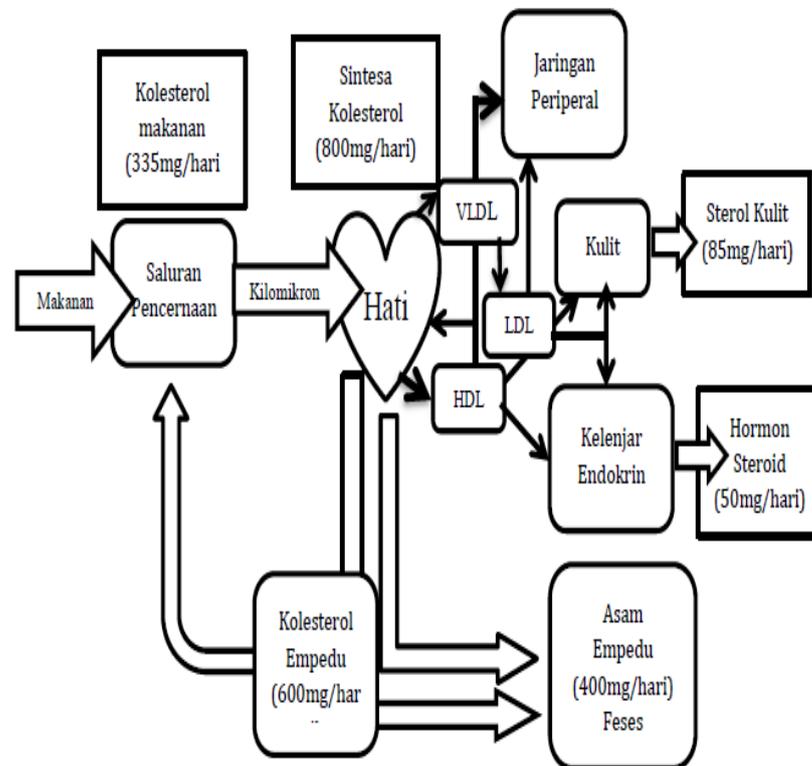
Sebagian besar kolesterol dibentuk di hati walaupun semua sel mampu memproduksi kolesterol (Hirakawa, 2005). Hati mensintesis sekitar 20 % kolesterol dalam tubuh. Total produksi kolesterol termasuk yang diserap dari makanan dan hasil sintesis dalam tubuh kira-kira 1 g/hari.

Jumlah kolesterol yang direkomendasikan sekitar 300 mg/hari (Gropper *et al*, 2005). Orang dewasa normal, mensintesis kolesterol sekitar 1g/hari dan mengonsumsinya sekitar 0,3 g/hari. Kadar kolesterol dalam tubuh sekitar 150--200 mg/dL yang digunakan untuk mengatur sintesis kolesterol.

Kecepatan sintesis kolesterol tergantung pada intake kolesterol dari makanan (King, 2010). Kolesterol dalam makanan diserap dari usus bersama lipid lainnya termasuk kolesterol yang disintesis dalam usus diinkorporasikan ke dalam kilomikron dan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL). Sebanyak 80-90% kolesterol yang diserap diesterifikasikan dengan asam lemak rantai panjang dalam getah bening (Murray *et al*, 2003).

Potter (2007) menyatakan bahwa kolesterol dari makanan sebesar 335 mg/hari masuk ke saluran pencernaan dalam bentuk kilomikron. Selanjutnya masuk ke hati dan mengalami sintesis sebanyak 800 mg/hari. Kilomikron yang masuk ke hati disintesis menjadi HDL dan VLDL (Gambar 4). *Very Low Density Lipoprotein* selanjutnya diubah menjadi LDL dan bersama dengan HDL masuk ke jaringan periperal, kulit, dan kelenjar endokrin. Kolesterol dalam tubuh diserap dalam bentuk asam kolat di hati yang dikonjugasikan dengan bahan lain membentuk garam empedu. Garam empedu membantu pencernaan dan penyerapan lemak (Hofmann, 2004). Kolesterol dari makanan dan hasil sintesis digunakan dalam pembentukan membran dan sintesis hormon steroid serta asam empedu. Sebagian besar jumlah kolesterol digunakan dalam proses sintesis asam empedu (King, 2010).

## KOLESTEROL



Gambar 4. Peredaran Kolesterol dalam Tubuh (Potter, 2007).

Beberapa strain BAL mampu memetabolisme kolesterol dari makanan dalam usus halus sehingga tidak diserap oleh tubuh. *Lactobacillus sp.* F2.13, strain endogen Indonesia mampu menurunkan kadar kolesterol total sebesar 33% (Nursini, 2010). *Bifidobacterium infantis* 17930 memiliki kemampuan dekonjugasi garam empedu paling tinggi dan aktivitas *Bile Salt Hydrolase* (BSH) lebih baik (Liong dan Shah, 2005).

Mekanisme penurunan kolesterol oleh aktivitas BAL disebabkan oleh enzim BSH yang mendekongugasi garam empedu, di mana glisin atau taurin dipisahkan dari steroid sehingga menghasilkan garam empedu bebas atau terdekongugasi. Enzim BSH menghasilkan garam empedu terdekongugasi dalam bentuk asam kolat bebas yang kurang diserap oleh usus halus. Dengan demikian, garam empedu yang kembali ke hati selama sirkulasi enterohepatik menjadi berkurang sehingga total kolesterol dalam tubuh menjadi berkurang. Beberapa jenis BAL memiliki dinding sel yang mampu mengikat kolesterol dalam usus halus sebelum kolesterol diserap oleh tubuh (Surono, 2004).

Enzim BSH akan memberikan keuntungan khusus bagi strain bakteri probiotik yang tumbuh pada lingkungan yang penuh persaingan dalam saluran pencernaan dengan memberikan daya tahan yang lebih baik terhadap garam empedu, serta membantu dalam menurunkan kadar kolesterol darah. *Bile Salt Hydrolase* dimiliki oleh beberapa strain bakteri saluran pencernaan seperti *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, dan *Bacteroides*. Asam lemak omega-3 berperan dalam pengaturan metabolisme kolesterol yang meliputi transport dan ekskresi kolesterol. Efek klinis dari asam lemak omega-3 dalam menurunkan kadar kolesterol mempengaruhi mekanisme produksi lipoprotein transport dalam hati yang disekresikan ke dalam darah (Ooi dan Liong, 2010)

## 2.6 Biosintesis Kolesterol

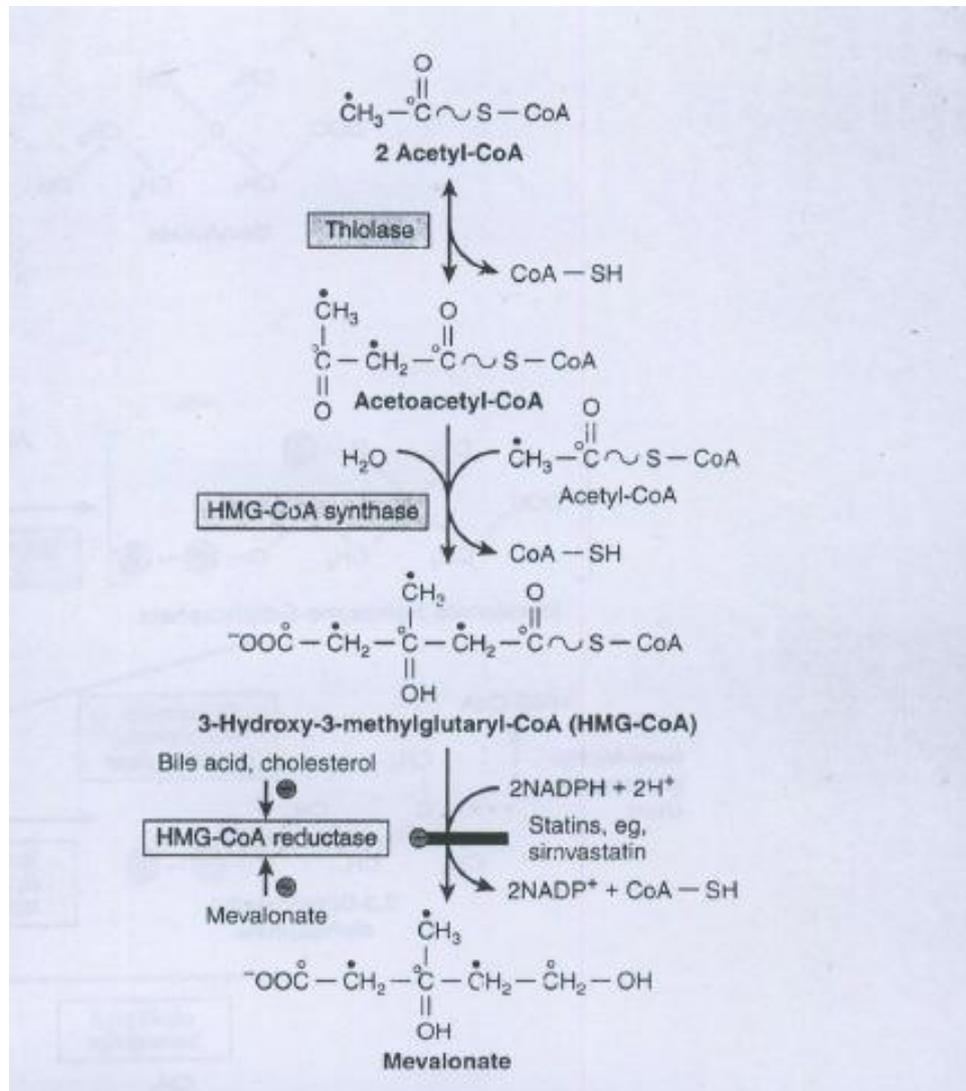
Biosintesis kolesterol terjadi pada sel-sel eukaryota. Sintesis kolesterol di mulai dari perpindahan asetil-KoA dari mitokondria ke sitosol, khususnya di peroksisom. Biosintesis kolesterol terjadi di 25 % di organ hati dan 10% di usus (Endo *et al*, 1976). Terdapat lima tahapan utama dalam biosintesis kolesterol yaitu:

- (1) konversi asetil-KoA menjadi 3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA (HMG KoA);
- (2) konversi HMG KoA menjadi mevalonat;
- (3) konversi mevalonat menjadi suatu molekul isopren yaitu isopentil pirofosfat (IPP) bersamaan dengan hilangnya CO<sub>2</sub>;
- (4) konversi IPP menjadi squalene; dan
- (5) konversi squalene menjadi kolesterol.

Dalam biosintesis kolesterol dilibatkan sebanyak sepuluh macam enzim yaitu asetoasetil-KoA thiolase, HMG KoA sintase, HMG KoA reduktase, mevalonat kinase, fosfomevalonat kinase, fosfomevalonat dekarboksilase, isopentenil-pirofosfatisomerase (IPP isomerase), farnesil-pirofosfat transferase (FPP transferase), squalene sintase, dan squalene epoksidase (Murray, 2012) (Gambar 5).

Rataan kadar kolesterol ayam arab setelah diberi probiotik mengalami penurunan. Penurunan ini terjadi karena probiotik di dalam saluran pencernaan ayam menghambat kerja enzim HMG-KoA reduktase yang

berperan dalam pembentukan mevalonat dalam proses sintesis kolesterol (Ahsani *et al*, 2013).



Gambar 5. Biosintesis Mevalonate (Murray *et al*, 2012)

Penurunan kolesterol terjadi karena senyawa yang dihasilkan mikrobia berkompetisi dengan HMG-KoA untuk berikatan dengan enzim HMG-KoA reduktase (Voet, *et al*. 1999 dalam Sudha *et al*, 2009).

Hammad *et al* (1996) dalam Yuneshi (2009) menyatakan bahwa kolesterol pada telur disintesis dalam hati unggas kemudian dibawa oleh darah dalam

bentuk lipoprotein dan tersimpan dalam folikel pertumbuhan dan diteruskan ke ovarium. Probiotik juga dapat mengasimilasi kolesterol yang ada di dalam tubuh inang untuk digunakan sebagai nutrisi bagi perkembangan tubuhnya.

Kolesterol kuning telur dipengaruhi oleh kadar kolesterol yang siap didistribusikan dari saluran pencernaan. Secara normal kadar kolesterol diatur oleh hati melalui mekanisme biokimia. Jika tingkat kolesterol rendah, maka produksi Hydroxi Metyl Glutaryl-KoA (HMG-KoA) reduktasi hati akan meningkat sehingga biosintesis kolesterol meningkat. Sebaliknya pada saat tingkat kolesterol tinggi, hati akan menurunkan produksi HMG-KoA reduktase sehingga sintesis kolesterol menurun. Mekanisme biokomia ini akan dipertahankan oleh tubuh untuk menjaga keseimbangan kolesterol dalam tubuh tetap normal. Dalam keadaan normal jika terjadi gangguan dalam konsumsi dan produksi kolesterol, maka akan terjadi mekanisme untuk mempertahankan keseimbangan kolesterol (Daud, 2007).

## **2.7 Kadar Trisgliserid Broiler**

Menurut Harper *et al* (1979) faktor-faktor yang memperbesar sintesis trigliserida dan sekresi VLDL oleh hati adalah makanan yang banyak mengandung karbohidrat, sirkulasi asam lemak bebas yang tinggi, adanya kadar insulin yang tinggi, dan kadar glukagon yang rendah. Sarwono *et al* (2012) menambahkan bahwa turunnya sintesis asam lemak di hati merupakan faktor utama penyebab turunnya sintesis trigliserida di hati yang berakibat lanjut pada turunnya konsentrasi trigliserida dalam serum.. Faktor-

faktor yang mempengaruhi kadar trigliserida adalah karbohidrat, serat kasar ransum, dan sirkulasi asam lemak bebas (Harper *et al*, 1979).

Basmacioglu dan Ergul (2005) menyatakan, nilai normal kolesterol darah ayam ras adalah Kolesterol total 52 – 148 mg/dl, Trigliserida < 150 mg/dl, HDL > 22 mg/dl, dan LDL < 130 mg/dl.

Lehninger (1997) menyatakan bahwa trigliserida disintesis dalam hati. Semakin tinggi asam lemak yang dihasilkan dari proses lipogenesis karbohidrat dan protein serta asam amino maka trigliserida yang disintesis di hati juga mengalami peningkatan dan secara langsung mempengaruhi konsentrasi trigliserida di dalam serum darah. Tingginya kandungan lemak di dalam jaringan dipengaruhi oleh kadar trigliserida di dalam serum yang berasal dari sintesis lemak di hati. Lemak yang terdapat dalam daging ayam umumnya terdiri dari trigliserida (lemak netral), fosfolipid (sebagian besar berupa lesitin), dan kolestrol.

Trigliserida adalah suatu ester gliserol. Trigliserida terbentuk dari 3 asam lemak dan gliserol. Lemak disimpan dalam tubuh dalam bentuk trigliserida. Apabila sel membutuhkan energi, enzim lipase dalam sel lemak akan memecah trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak serta melepaskannya ke dalam pembuluh darah dan oleh sel-sel yang membutuhkan komponen-komponen tersebut kemudian dibakar dan menghasilkan energi, karbondioksida (CO<sub>2</sub>), dan air (H<sub>2</sub>O) (Murtidjo, 2003).

Menurut Syamsuhadi (1997), imbangan energi protein ransum yang diperluas dapat meningkatkan konsentrasi trigliserida yang ada dalam serum darah, sedangkan menurut Santoso *et al* (2004) umur ayam mempengaruhi kandungan trigliserida di dalam serum darah. Semakin lama ayam dipelihara maka kandungan trigliserida serum darah ayam tersebut akan meningkat. Trigliserida merupakan sejenis lemak yang proporsinya terbesar pada lemak dalam makanan merupakan cadangan energi yang disimpan di dalam jaringan adiposa dan otot. Jika tubuh membutuhkan energi, maka trigliserida dilepaskan untuk dimetabolisme menjadi energi. Sementara kolesterol juga merupakan senyawa semacam lemak terdapat di dalam makanan dan di dalam darah. Kolesterol dan trigliserida tidak larut di dalam darah sehingga diperlukan kendaraan untuk mengangkutnya yaitu lipoprotein.

Susanto (2006) menyatakan bahwa trigliserida adalah lemak yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme makanan. Bukan saja yang berbentuk lemak, tetapi juga makanan yang berbentuk karbohidrat dan protein yang berlebihan juga tidak seluruhnya dibutuhkan sebagai sumber energi. Menurut Amrullah (2003) trigliserida adalah lemak utama yang disimpan dalam jaringan tubuh ayam, sekitar 95% dari ransum dan 5% disintesis dalam tubuh.

Solichedi, K. dan V.D. Yuniarto (2003) menyatakan bahwa sebelum sampai ke hati, trigliserida dari kilomikron dapat juga digunakan oleh jaringan otot atau jaringan lain atau disimpan dalam jaringan adipose.

Asam lemak hasil dari kerja lipase diserap usus halus dengan bantuan empedu, lemak yang diserap masuk peredaran darah melalui vena porta ke hati kemudian disintesis dalam hati menjadi trigliserid. Lemak (trigliserid) yang masuk peredaran darah dapat langsung disimpan dalam jaringan (Anggorodi , 1994).

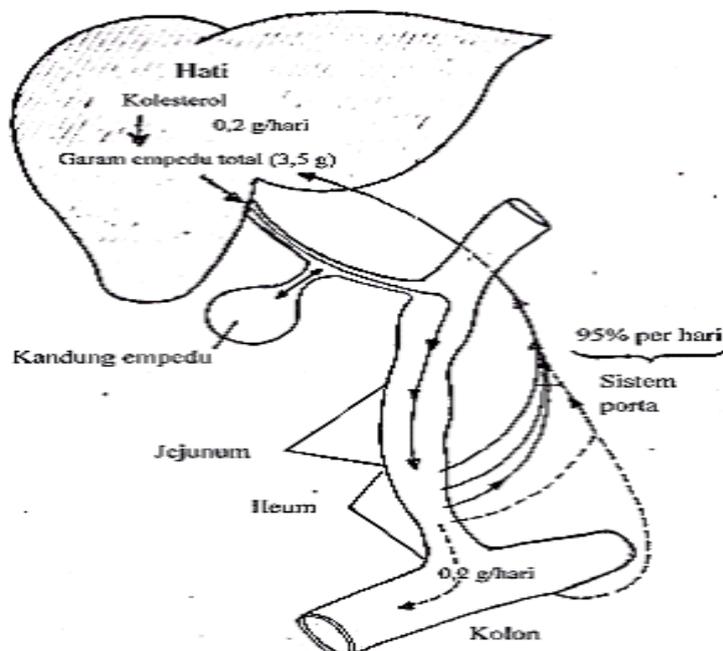
## 2.8 Empedu

Pembentukan empedu sangat penting dalam pencernaan dan penyerapan lemak, ekskresi xenobiotik larut lemak dan racun dalam tubuh, dan keseimbangan kadar kolesterol. Garam empedu secara alamiah bersifat amphipilik karena memiliki gugus polar dan nonpolar. Gugus polar memiliki permukaan yang bersifat hidrofilik yang mengandung gugus hidroksil dan gugus karbonil, sedangkan gugus nonpolar bersifat hidropobik (Salen dan Batta, 2004).

Cairan empedu merupakan gabungan antara asam empedu dan garam empedu. Bilirubin *tetrapyrrole* (berwarna coklat), merupakan komponen pemberi warna terbesar pada empedu, dan merupakan produk akhir dari metabolisme heme. Apabila bilirubin mengalami oksidasi, akan berubah menjadi biliverdin (berwarna hijau) (Bijl *et al*, 2009).

Garam empedu bersama pospolipid dan kolesterol merupakan cairan organik terbesar dalam empedu dan merupakan kunci kekuatan dalam pembentukan empedu pada saat disekresikan ke *canalikuli* empedu melewati membran *apikal hepatosit* (Beuers dan Puhl, 2004).

Komponen utama asam empedu dalam empedu manusia yaitu asam xenoodeoksikolat (45%) dan asam kolat (31%). Sebelum sebagian besar 24 -26 garam empedu disekresikan ke lumen canalikuli, terlebih dulu terjadi konjugasi dengan ikatan amida pada terminal gugus karboksil dengan asam amino glisin dan taurin. Reaksi konjugasi ini menghasilkan *glycoconjugates* dan *tauroconjugates*. Sebanyak 95% dari total garam empedu yang disintesis di hati diserap oleh usus distal dan dikembalikan lagi ke hati. Proses sekresi dari hati ke *gallbladder* kemudian ke usus dan akhirnya diserap kembali disebut siklus enterohepatik. Jumlah total garam empedu yang mengalami siklus berulang-ulang melalui siklus enterohepatik sekitar 3,5 g. Jumlah tersebut bersirkulasi dua kali per makan dan 6--8 kali per hari. Apabila empedu tidak ada di usus, maka hampir 50% lemak yang dimakan akan keluar melalui feses (Ganong, 2002). (Gambar 6).



Gambar 6. Siklus Enterohepatik Garam Empedu (Ganong, 2002)

Garis yang tidak terputus yang masuk ke dalam sistem portal merupakan garam empedu yang berasal dari hati, sedangkan garis terputus-putus menunjukkan garam empedu yang terbentuk akibat aktivitas bakteri.

Produk akhir dari penggunaan kolesterol adalah asam empedu. Sintesis asam empedu merupakan mekanisme utama untuk mengeluarkan kelebihan kolesterol. Ekskresi kolesterol dalam bentuk asam empedu tidak cukup untuk mengimbangi kelebihan intake kolesterol dari makanan. Walaupun sintesis asam empedu merupakan jalan untuk proses katabolisme kolesterol, campuran terlarut antara kolesterol dari makanan, lemak, dan zat gizi esensial juga penting untuk memperlancar transportnya ke hati. Proses sintesis asam empedu membutuhkan kerja 17 enzim dan berlangsung di beberapa bagian intraseluler termasuk sitosol, retikulum endoplasma, mitokondria, dan peroxisom (King, 2010).

## **2.9 Pengukuran Kadar Kolesterol**

Penentuan kadar kolesterol dalam makanan dengan metode kromatografi gas lebih banyak disukai karena metodenya yang cukup sederhana mempunyai tingkat keakurasian yang baik untuk penentuan kolesterol dalam makanan.

Metode kromatografi gas memerlukan preparasi sebelum analisis yang meliputi ekstraksi lipida total, menguapkan pelarut yang digunakan, saponifikasi alkalis dari lipida, ekstraksi senyawa tak tersaponifikasi dengan pelarut organik, menguapkan pelarut yang dipakai, danderivatisasi senyawa tak tersaponifikasi dianalisis dengan kromatografi. Metode lain yang lebih singkat adalah dengan

mengadakan saponifikasi langsung dari sampel kemudian diteruskan dengan ekstraksi media alkali tersebut dengan pelarut organik dan penentuan dengan kromatografi gas (Muharrami, 2011).

### 2.9.1 Saponifikasi

Metode kuantitatif penentuan kadar kolesterol makanan yang diadopsi dari AOAC(1996) dan Punwar (1976) di antaranya adalah ekstraksi lipid, saponifikasi, ekstraksi dari zat yang tidak tersaponifikasi dengan benzena, dan kromatografi gas 5 $\alpha$ -kolestana sebagai standar internal. Saponifikasi adalah reaksi hidrolisis asam lemak oleh adanya basa lemah. Saponifikasi tidak hanya menghasilkan kolesterol, tetapi juga pengotor lain dari asam lemak meskipun pada kenyataannya lipid dalam sampel sudah diekstraksi terlebih dahulu.

Van Elswyk *et al* (1991) menyimpulkan bahwa metode saponifikasi langsung adalah metode yang paling akurat untuk menghasilkan kolesterol bebas. Pernyataan ini diawali dengan penelitian menggunakan metode saponifikasi langsung dengan KOH-etanol dan metode ini dapat mengeliminasi ekstraksi lipid. Dalam berbagai penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa saponifikasi langsung lebih efisien dibandingkan dengan metode yang lain. Teknik saponifikasi ini dapat dilakukan dengan penambahan KOH dalam air atau alkohol. Pada penelitian lain menunjukkan bahwa saponifikasi yang menggunakan larutan KOH dalam air dengan penambahan etanol lebih

efektif menghilangkan semua pengotor (asam lemak) dalam bentuk busa yang dapat dipisahkan selama ekstraksi dan purifikasi.

### 2.9.2 Ekstraksi

Pembersihan hasil kromatogram tidak hanya disebabkan oleh saponifikasi, tetapi juga ekstraksi dan purifikasi. Kolesterol dengan polaritas rendah dalam campuran yang tersaponifikasi harus diekstraksi dengan pelarut yang dapat bercampur baik dalam suasana air-etanol dan menciptakan fase homogen dalam ekstraksi. Hasil penelitian lain yang dipakai untuk mengekstraksi kolesterol adalah dengan menggunakan eter (Fenton, 1992).

Penggunaan eter sebagai pelarut dapat menghasilkan peroksida yang dapat menyebabkan degradasi sterol sehingga ekstraksi kolesterol yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan heksana di mana berdasarkan laporan menunjukkan bahwa hasilnya cukup akurat. Hal ini karena heksana merupakan pelarut yang baik untuk kolesterol. Heksana tidak berbahaya dibandingkan dengan pelarut-pelarut yang lain, tidak membentuk emulsi, tidak larut sempurna dalam air, tetapi dapat menurunkan kadar kolesterol. Ekstraksi tersebut dilakukan dengan menggunakan ekstraksi heksana ganda untuk memperoleh *recoveri* yang cukup seperti yang dilakukan oleh Patton *et al* (1990) dan Al-Hasani *et al* (1993). Fenomena ini dapat terjadi karena heksana merupakan pelarut yang sangat rendah polaritasnya.

### 2.9.3 KG (Kromatografi Gas)

Kromatografi berasal dari kata *chroma* (warna) dan *graphein* (penulisan) merupakan suatu teknik pemisahan fisik karena memanfaatkan perbedaan yang kecil sifat-sifat fisik dari komponen-komponen yang akan dipisahkan.

Kromatografi gas (KG) adalah suatu cara untuk memisahkan campuran dengan mengalirkan arus gas melalui fase diam (Mc Nair, 1988 dalam Muharrami, 2011). Metode kromatografi yang digunakan ada dua cara yaitu cara tradisional dengan derivatisasi dan modern tanpa derivatisasi. Derivatisasi sterol dianalisis dengan detektor flame ionisasi. Pada derivatisasi sterol, kolom GC dilapisi dengan golongan silanol aktif pada permukaan yang terbuat dari silika yang dapat mencegah adsorpsi analit yang tidak dapat diderivatisasi sehingga gangguan puncak tidak dapat teramati.

Meskipun puncak beberapa asam lemak metil ester masih ada dalam kromatogram, pada saat pemisahan atau kontaminasi pada kolom kapiler tidak nampak, elusi hanya terjadi pada bidang pelarut. Pemisahan kromatografi kolesterol tanpa derivatisasi TMS eter sudah diteliti dan didokumentasi akhir-akhir ini karena perkembangan teknologi kromatografi gas kapiler dengan resolusi tinggi (Al-Hasani *et al*, 1993). Penelitian ini menunjukkan bahwa kolesterol tidak membutuhkan untuk dirubah menjadi lebih volatil dan hasilnya dapat dibandingkan dengan teknik derivatisasi tradisional.

#### 2.9.4 Kalibrasi

Kalibrasi standar internal dan eksternal telah direkomendasikan untuk analisis kolesterol. Teknik standar internal dapat meminimalkan pengaruh berbagai macam error analit termasuk fluktuasi ukuran sampel yang timbal baliknya adalah senyawa yang digunakan sebagai standar internal mempunyai sifat kimia yang sama dengan analit. Senyawa 5-kolesten yang sering digunakan sebagai standar internal dalam analisis kolesterol adalah alkana yang mempunyai sifat kimia dan fisika seperti kolesterol sehingga kegunaannya sebagai standar internal sangat dibutuhkan. Selanjutnya, ketidaktentuan pengukuran area standar internal sendiri dapat meningkatkan presisi error analisis dibandingkan pengukuran dengan kalibrasi teknik standar eksternal karena muncul dua puncak pada pengukuran lebih dari satu.

#### 2.9.5 Validasi Metode Analisis

Validasi menurut Badan Standardisasi Nasional Indonesia adalah konfirmasi melalui pengujian dan pengadaan bukti yang objektif bahwa persyaratan tertentu untuk maksud khusus dipenuhi. Definisi validasi metode sendiri adalah proses terdokumentasi yang menjamin bahwa pelaksanaannya dapat juga diartikan sebagai rangkaian seri percobaan tertentu untuk memastikan bahwa metode analisis yang akan dipakai telah sah memenuhi persyaratan-persyaratan yang telah ditentukan. Rangkaian seri percobaan yang dipakai untuk memvalidasi metode analisis disebut parameter validasi. Parameter metode analisis terdiri dari:

a. *Selektivitas dan Spesivitas*

Selektivitas diartikan sebagai kemampuan suatu metode analisis untuk memberi tanggap detektor terhadap komponen-komponen kimia secara terpisah sedangkan spesivitas diartikan sebagai kemampuan suatu metode analisis untuk memberi tanggap detektor hanya terhadap suatu alat.

b. *Kecermatan (Presisi)*

Kecermatan atau presisi diartikan sebagai perbedaan dari hasil penentuan berkali-kali (2-10 kali) dengan protokol atau prosedur analisis yang diikuti secara ketat. Kecermatan dapat dinyatakan dengan Coefficient of Variation (CV) dan Relative Standard Deviation (RSD) sebagai berikut.

$$RSD = (s/x) \times 1000 \text{ppt}$$

$$CV = (s/x) \times 100\%$$

Dengan s adalah simpangan baku dan x merupakan hasil penentuan rata-rata. Untuk harga  $RSD < 20 \text{ ppt}$  atau  $CV < 2\%$  dapat dikatakan metode tersebut memiliki presisi yang bagus.

c. *Ketepatan (Accuracy)*

Ketepatan (akurasi) adalah keterdekatan hasil penentuan metode analisis dengan harga sebenarnya. Indikasi yang paling umum untuk menyatakan "High Accuracy" adalah persen perolehan kembali (% recovery) yang dinyatakan dengan  $\% \text{ recovery} = X_t/X_i \times 100\%$ .

Akurasi dapat juga dinyatakan dalam Absolute Error ( AE) atau Relative Error (RE) sebagaiberikut.

$$AE = X_i - X_t$$

$$RE = [(X_i - X_t)] \times 100\%$$

Dengan  $X_i$  adalah harga atau kadar rata-rata yang didapat dan  $X_t$  adalah harga atau kadar yang sebenarnya. Persentase recovery 80%--120% sudah dikatakan memadai untuk analisis cuplikan biologis atau bioanalisis (Mulja, 1997, dalam Muharrami, 2011).

## 2.10 Ayam Petelur

Ayam petelur merupakan ayam yang sangat efisien untuk menghasilkan telur dan sangat potensial untuk diusahakan karena mudah untuk dipelihara, cepat berproduksi, dan produksinya berupa telur yang disukai masyarakat. Ayam petelur adalah ayam yang sangat efisien untuk menghasilkan telur dan mulai bertelur umur  $\pm 5$  bulan dengan jumlah telur sekitar 250 - 300 butir per ekor per tahun (Susilorini *et al*, 2008).



Gambar 7. Ayam Petelur

Kandungan komposisi gizi telur terdiri antara lain air 73,7 %, protein 12,9 %, lemak 11,2%, dan karbohidrat 0,9 %. Namun, kadar lemak pada putih telur hampir tidak ada. Hampir semua lemak di dalam telur terdapat pada kuning telur, yaitu mencapai 32 %, sedangkan pada putih telur kandungan lemaknya sangat sedikit. Maka pengamatan lemak dan kolesterol lebih efektif dilakukan pada kuning telur (Komala, 2008).

Ayam *Isa Brown* merupakan *strain* ayam ras petelur modern. *Strain* adalah klasifikasi ayam berdasarkan garis keturunan tertentu melalui persilangan dari berbagai kelas, bangsa, dan varietas sehingga ayam mempunyai bentuk, sifat, dan tipe produksi tertentu sesuai dengan tujuan produksi (Yuwanta, 2004).

Umur ayam petelur dibagi menjadi 4 fase yaitu *stater* (umur 0 – 6 minggu), *grower* (6 – 14 minggu), *pullet* (14 – 20 minggu), dan *layer* (21 – 75 minggu). Setiap fase memerlukan nutrisi yang berbeda sesuai dengan keperluan tubuh untuk mendapatkan performa optimal (Yuwanta, 2004).

Ayam *Isa Brown* memiliki periode bertelur pada umur 18 – 80 minggu, daya hidup 93,2%, puncak produksi mencapai 95%, jumlah telur 351 butir, dan rata-rata berat telur 63,1 g/butir. Awal bertelur pada umur 18 minggu dengan berat telur 43 g. Berat telur ayam *Isa Brown* mulai meningkat saat memasuki umur 21 minggu, umur 36 minggu, dan relatif stabil pada umur 50 minggu (*Isa Brown Commercial Layers*, 2009). Keunggulan *Isa Brown* yaitu:

1. tingkat keseragaman tinggi
2. dewasa kelamin sama
3. produksi tinggi
4. kekebalan tubuh tinggi
5. ketahanan terhadap iklim tinggi (Rasyaf, 1989)

*Isa Brown* menghasilkan telur dengan warna kerabang coklat. *Strain Isa Brown* memiliki bulu coklat kemerahan. *Isa Brown* mulai berproduksi umur 18 – 19 minggu dengan rata-rata berat telur 62,9 g dan bobot badannya 2015 g. Periode produksi ayam petelur terdiri dari 2 periode yaitu fase 1 dari umur 22 minggu dengan rata-rata produksi telur 78% dan berat telur 56 g, fase 2 umur 42 – 72 minggu dengan rata-rata produksi telur 72% dan bobot telur 60 g (Scot *et al*, 1982).

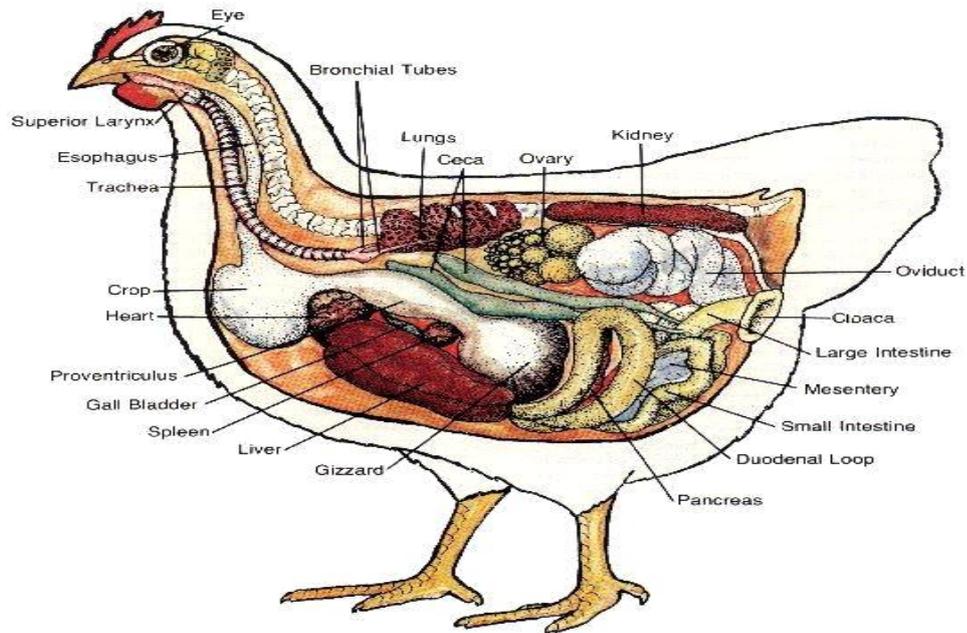
Keseragaman ayam minimal yang harus dicapai ialah 80 % jika keseragaman turun bisa dipastikan puncak produksi akan sulit tercapai. Asupan nutrisi yang cukup dan berkualitas menjadi syarat untuk tercapainya produksi telur yang optimal, sumber utamanya dari pakan yang diberikan. Penambahan feed additive juga dapat melengkapi kandungan nutrisi mikro, seperti vitamin,

mineral maupun asam amino. Genetik ayam yang semakin berkembang berpengaruh pada kebutuhan nutrisinya menjadi semakin kompleks. Ayam petelur sekarang akan langsung memberikan respon jika kualitas pakan kurang sesuai (Sjofjan dan Widodo, 2012).

Pertumbuhan dan perkembangan ternak dapat ditunjang dengan memberikan tambahan suplemen probiotik pada ayam petelur periode starter sampai grower agar didapatkan performa produksi fase layer yang optimal sesuai standar potensinya. Sejumlah probiotik dilaporkan memiliki pengaruh dalam mengatur karakter fisiologis jalur digesti antara lain permeabilitas usus dan sistem imun pada mukosa usus. Dinyatakan bahwa di dalam usus terdapat *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus* yang memproduksi asam lemak rantai pendek, asam laktat, dan senyawa antimikrobia (Awad, 2008).

### **2.11 Sistem Reproduksi Ayam Betina**

Organ reproduksi pada unggas adalah ovarium dan *oviduct* untuk unggas betina dan testis untuk unggas jantan. Pada unggas betina organ reproduksi bagian kiri yang berkembang normal dan berfungsi dengan, tetapi untuk bagian kanan mengalami rudimeter (Sarwono, 1997).



Gambar 8. Anatomi Ayam betina (Rukmana, 2009).

Organ reproduksi ayam betina terdiri dari ovarium dan *oviduct*. Pada ovarium terdapat banyak folikel dan ovum. *Oviduct* terdiri dari infudibulum, magnum, ithmus, kelenjar kerabang telur, dan vagina (Nalbandov, 1990).

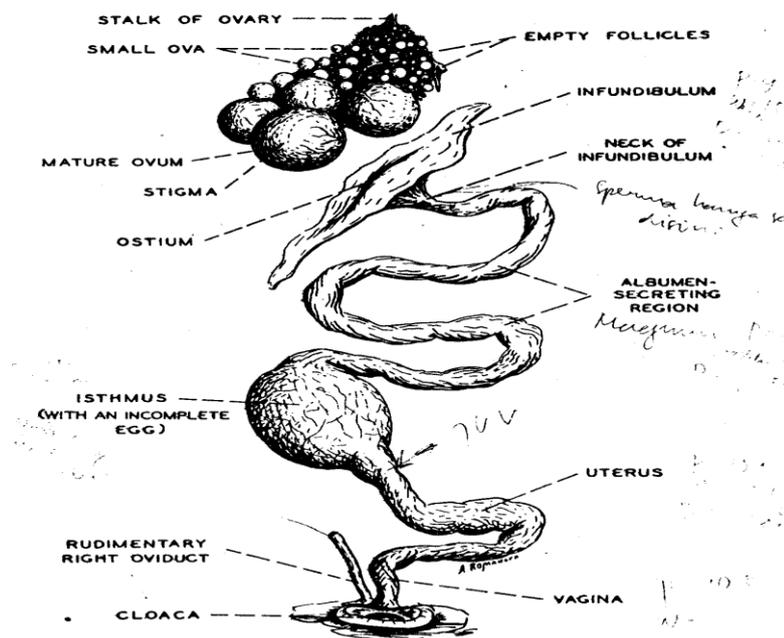
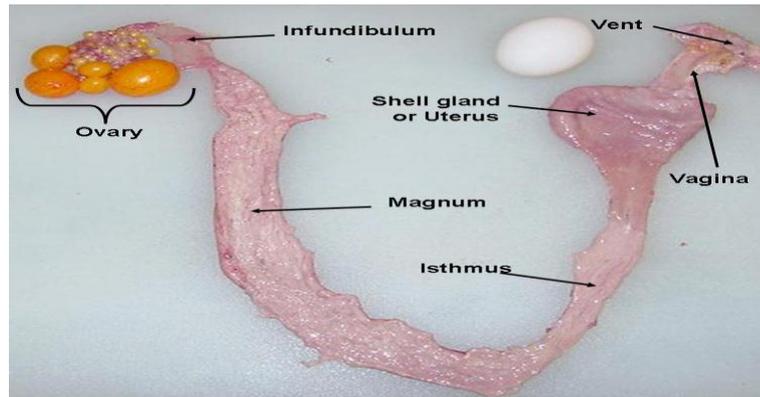
### 2.11.1 Ovarium

Ovarium terletak pada daerah kranial ginjal di antara rongga dada dan rongga perut pada garis punggung sebagai penghasil ovum. Ovarium sangat kaya akan kuning telur atau yang disebut *yolk*. Ovarium terdiri atas dua lobus besar yang banyak mengandung folikel-folikel (Nalbandov, 1990). Ovarium biasanya terdiri dari 5 sampai 6 ovum yang telah berkembang dan sekitar 3.000 ovum yang belum masak yang berwarna putih (Akoso, 1998)

### 2.11.2 Oviduk

Oviduk terdapat sepasang dan merupakan saluran penghubung antara ovarium dan uterus. Pada unggas oviduk hanya satu yang berkembang baik dan yang lainnya mengalami rudimenter. Bentuknya panjang dan berkelok-kelok yang merupakan bagian dari *ductus Muller*. Ujungnya melebar membentuk corong dengan tepi yang berjumbai Oviduk terdiri dari lima bagian yaitu: infundibulum atau *funnel*, magnum, isthmus, uterus atau *shell gland* dan vagina (Nalbandov, 1990).

Oviduk mempunyai struktur yang kompleks untuk menghasilkan bahan sekitar 40 g (10 g padat dan 30 g air) dalam waktu sekitar 26 jam. Secara garis besar terdiri dari lapisan peritoneal eksternal (serosa), lapisan otot longitudinal luar dan sirkuler dalam, lapisan jaringan pengikat pembawa pembuluh darah dan syaraf, serta lapisan mukosa yang melapisi seluruh duktus. Pada ayam muda mukosa bersifat sederhana tanpa lekukan maupun lipatan. Pada saat mendekati dewasa ayam betina mendapat stimulus dari estrogen dan progesteron, maka oviduk menjadi sangat kompleks dengan terbentuknya ikatan-ikatan primer, sekunder, dan tersier. Pada puncak aktivitas sekresinya, sel-sel menunjukkan bentuk variasinya dari kolumnar tinggi simpleks sampai kolumnar transisional yang memiliki silia. Oviduk unggas tidak dapat membedakan antara ovum dengan benda-benda asing sehingga akan tetap mensekresikan albumen, kerabang lunak, dan kerabang keras di sekitar benda asing tersebut (Nalbandov, 1990).



Gambar 9. Organ reproduksi ayam betina (Nalbandov, 1990)

### 2.11.3 Proses Pembentukan Telur Ayam

Terbentuknya telur dimulai dengan terbentuknya kuning telur di dalam **ovarium**. Ovum yang telah matang akan dilepaskan oleh ovarium dan ditangkap oleh **Infundibulum**. Kuning telur berada di bagian ini selama 15-30 menit tanpa adanya penambahan unsur lain. Dari infundibulum kemudian masuk ke bagian **Magnum**, albumen telur disekresikan. Proses ini memakan waktu sekitar 3 jam. Selanjutnya masuk ke bagian **Isthmus**, telur dibungkus

oleh 2 buah selaput tipis (membran sel). Proses ini memakan waktu sekitar 1,5 jam. Setelah membran sel terbentuk, kemudian masuk ke dalam **Uterus**, kerabang telur terbentuk. Proses ini memakan waktu sekitar 20--21 jam. Selanjutnya telur masuk ke dalam **vagina**, hanya beberapa menit saja dan kemudian dikeluarkan melalui **kloaka**. Proses pembentukan telur ayam membutuhkan waktu sekitar 25--26 jam. Maka ayam tidak akan mampu bertelur lebih dari 1 butir/hari (Nalbandov, 1990).