

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Mikroflora Usus Itik

Proses pencernaan serat kasar pada itik terjadi pada sekum. Sekum adalah ruang fermentasi pada itik yang memiliki panjang berkisar 10-29 cm (Srigandono, 1997). Menurut Gabriel *et al.*, (2006); dalam saluran pencernaan terdapat populasi mikroorganisme dengan berbagai ukuran dan kompleksitas. Mikroorganisme yang melekat pada saluran usus tersebut dinamakan mikroflora usus (Nakazawa, 1992). Mikroflora usus merupakan ekosistem yang kompleks terdiri dari sejumlah besar bakteri. Dijelaskan lebih lanjut bahwa mikroorganisme yang ada dalam sekum bersifat anaerob obligat, sedangkan yang ada di tembolok bersifat anaerob fakultatif. Tipe, jumlah, dan aktivitas metabolik mikroorganisme tersebut sangat dipengaruhi oleh faktor individu, umur ternak, lingkungan, dan pakan yang dikonsumsi. (Gabriel *et al.*, 2006).

Mikroflora normal usus mempunyai sifat (1) dapat tumbuh dalam kondisi anaerobik, (2) terdapat pada saluran pencernaan dewasa normal, (3) dapat mengkolonisasi pada bagian spesifik saluran pencernaan, (4) dapat membangun habitat sendiri (5) dapat menjaga populasi pada dewasa normal,

(6) dapat melekatkan diri dengan permukaan epitel usus. Kemampuan bakteri ini untuk melekat pada jaringan epitel usus (lapisan lendirnya), dapat dibuktikan dengan kemampuannya mengkolonisasi saluran usus dan menjaga populasi tetapnya (Nakazawa, 1992).

## **B. Antibakteri**

Antibakteri adalah suatu senyawa yang dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al.*, 2001). Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembasmian bakteri yaitu:

- a. Germisid adalah bahan yang dipakai untuk membasmi mikroorganisme dengan mematikan sel-sel vegetatif, tetapi tidak selalu mematikan bentuk sporanya.
- b. Bakterisid adalah bahan yang dipakai untuk mematikan bentuk-bentuk vegetatif bakteri.
- c. Bakteriostatik adalah suatu bahan yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tanpa memamatkannya.
- d. Antiseptik adalah suatu bahan yang menghambat atau membunuh mikroorganisme dengan mencegah pertumbuhan atau menghambat aktivitas metabolisme, digunakan pada jaringan hidup.
- e. Desinfektan adalah bahan yang dipakai untuk membasmi bakteri dan mikroorganisme patogen tapi belum tentu beserta sporanya, digunakan pada benda mati (Pelczar dan Chan, 1988).

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh bakteri dikenal sebagai bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh bakteri, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswara, 1995).

Efektivitas senyawa antimikroba dapat dilihat pada pengujian antimikroba dengan menentukan konsentrasi terkecil agar pertumbuhan organisme uji dapat terhambat. Pengujian antimikroba dengan menentukan konsentrasi terkecil dilakukan dengan metode *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Metode MIC ini terdiri dari dua teknik, yaitu teknik tabung pengenceran dan teknik difusi agar (Middelbeek dan Drijver de Haas, 1992).

Kriteria zat ideal yang digunakan sebagai zat antimikroba adalah aktivitasnya yang cukup luas, tidak bersifat racun, ekonomis, sebaiknya bersifat membunuh daripada hanya menghambat pertumbuhan mikroba (Pelczar dan Chan, 1988). Keadaan-keadaan yang dapat mempengaruhi kerja antimikroba antara lain konsentrasi antimikroba yang digunakan, jumlah mikroorganisme, suhu dan waktu kontak, spesies atau jenis mikroorganisme, keberadaan bahan organik dan pH (Frazier dan Wessthof, 1988). Cara kerja zat antimikroba pada organisme, yaitu dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas

dinding sel, merubah molekul protein dan asam nukleat serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 1988)

### C. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian terhadap aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu:

1. Agar difusi, media yang dipakai adalah agar Mueller Hinton. Pada metode difusi ini ada beberapa cara, yaitu:
  - a. Cara Kirby Bauer
  - b. Cara Sumuran
  - c. Cara *Pour Plate*

2. Dilusi cair/ dilusi padat

Pada prinsipnya antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, kemudian ditanami bakteri. Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan disebut Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Suatu antimikroba dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap

mikroba apabila nilai konsentrasi minimum hambatannya rendah tetapi mempunyai daya hambat yang besar (Hayati, 1999).

Perhitungan hasil pengamatan dilakukan dengan cara mengukur diameter hambatan senyawa yang diperiksa dibandingkan dengan diameter hambatan senyawa standar pada konsentrasi yang sama (Sherley, 1998).

$$\text{Potensi} = \frac{\text{Diameter hambatan senyawa antimikroba}}{\text{Diameter senyawa baku dengan konsentrasi sama}} \times 100 \%$$

#### **D. Bakteri Gram Positif**

Secara garis besar berdasar pengecatan Gram, bakteri dikelompokkan menjadi 2, yaitu gram positif dan Gram negatif. Bakteri gram positif adalah bakteri yang mempertahankan zat warna Gram A yang mengandung kistal violet, sewaktu proses pewarnaan gram. Bakteri jenis ini akan berwarna ungu di bawah mikroskop, sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah atau merah muda, karena warna ungu dapat dilunturkan kemudian mengikat cat Gram D sebagai warna kontras. Perbedaan klasifikasi antara kedua jenis bakteri ini terutama didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel bakteri (Jawetz, 1996).

Pada bakteri gram positif susunan dinding selnya lebih sederhana terdiri atas 2 lapis namun memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal sementara pada dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks terdiri atas 3 lapis namun lapisan peptidoglikan tipis (Beveridge, 1999).

### 1. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

*S. aureus* berbentuk bulat atau lonjong, merupakan jenis yang tidak bergerak, tidak berspora, bakteri gram positif dan tersusun dalam kelompok (seperti buah anggur). Pembentukan kelompok ini karena pembelahan sel-sel anaknya cenderung tetap berada di dekat sel induknya (Gupte, 1990). *S. aureus* merupakan kuman penyebab penyakit yang sering terjadi di masyarakat maupun sebagai infeksi nosokomial. Kolonisasi *S. aureus* seringkali tidak bergejala dan hidup secara komensal pada hidung manusia (Fournier, 2005). *S. aureus* dapat menyebabkan penyakit berkat kemampuannya melakukan pembelahan, dan menyebar luas ke dalam jaringan serta mampu memproduksi bahan ekstra seluler seperti katalase, koagulase, eksotoksin, lekosidin, toksin eksfoliatif, Toksin Sindroma Syok Toksik (Toxic Shock Syndrome Toxin), enterotoksin dan enzim lain (Jawetz *et al.*, 2001).

### 2. *Bacillus subtilis*

Bakteri *Bacillus sp* merupakan mikroba flora normal pada saluran pencernaan ayam (Green *et al.*, 2006). Ciri-ciri bakteri ini adalah organisme saprophytik, berbentuk batang, gram positif membentuk spora non-patogen yang biasanya ditemukan dalam air, udara, debu, tanah dan sedimen. Terdapat beberapa jenis bakteri yang bersifat saprofit pada tanah, air, udara dan tumbuhan seperti *Bacillus cereus* dan *Bacillus subtilis* (Jawetz *et al.*, 2001). Jenis-jenis *Bacillus* yang ditemukan pada saluran pencernaan ayam yaitu *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilis*, *Bacillus*

*lincheniformis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus firmus*, kelompok *Bacillus cereus* (Barbosa *et al.*, 2005).

#### **E. Bakteri Asam Laktat (BAL)**

Menurut Jenie (2006) produk bakteri asam laktat yang bersifat heterofermentatif adalah asam laktat, asam asetat, CO<sub>2</sub> dan etanol dalam jumlah yang besar. Bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif mengubah 95% glukosa atau heksosa menjadi asam laktat dan sejumlah kecil CO<sub>2</sub> serta asam-asam volatil. Hasil fermentasi *Lactobacillus* yang berupa senyawa asam organik dan alkohol berpotensi dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain.

Bakteri yang termasuk kelompok bakteri asam laktat adalah *Aerococcus*, *Alloccoccus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, dan *Vagococcus* (Ali dan Radu, 1998).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok besar bakteri menguntungkan yang memiliki sifat relatif sama. Saat ini bakteri asam laktat digunakan untuk pengawetan dan memperbaiki tekstur dan cita rasa bahan pangan. Bakteri asam laktat mampu memproduksi asam laktat sebagai produk akhir perombakan karbohidrat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin (Afrianto *et al.*, 2006). Dengan terbentuknya zat antibakteri dan asam maka

pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *E. coli* akan dihambat (Silalahi, 2000). Efektivitas bakteri asam laktat dalam menghambat bakteri pembusuk dipengaruhi oleh kepadatan bakteri asam laktat, strain bakteri asam laktat, dan komposisi media. Selain itu, produksi substansi penghambat dari bakteri asam laktat dipengaruhi oleh media pertumbuhan, pH, dan temperature lingkungan (Stiles, 1990).

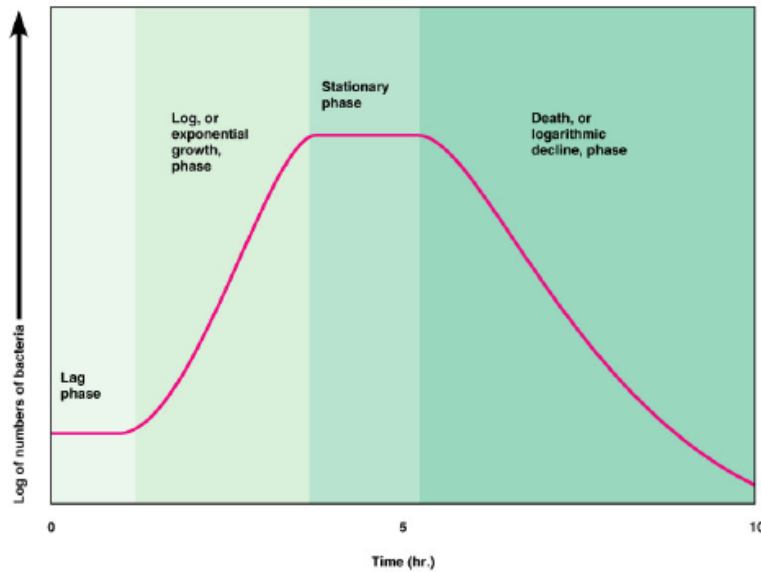
## **F. Pertumbuhan Mikroorganisme**

Pertumbuhan merupakan proses bertambahnya ukuran atau substansi atau masa zat suatu organisme, misalnya kita makhluk makro ini dikatakan tumbuh ketika bertambah tinggi, bertambah besar atau bertambah berat. Pada organisme bersel satu pertumbuhan lebih diartikan sebagai pertumbuhan koloni, yaitu penambahan jumlah koloni, ukuran koloni yang semakin besar atau substansi atau massa mikroba dalam koloni tersebut semakin banyak, pertumbuhan pada mikroba diartikan sebagai penambahan jumlah sel mikroba itu sendiri. Pertumbuhan merupakan suatu proses kehidupan yang irreversible artinya tidak dapat dibalik kejadiannya. Pertumbuhan didefinisikan sebagai penambahan kuantitas konstituen seluler dan struktur organisme yang dapat dinyatakan dengan ukuran, diikuti penambahan jumlah, penambahan ukuran sel, penambahan berat atau massa dan parameter lain. Sebagai hasil penambahan ukuran dan pembelahan sel atau penambahan jumlah sel maka terjadi pertumbuhan populasi mikroba (Iqbalali, 2008). Pertumbuhan mikroba dalam suatu medium mengalami fase-fase yang berbeda, yang berturut-turut



disebut dengan fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian.

Pada fase kematian eksponensial tidak diamati pada kondisi umum pertumbuhan kultur bakteri, kecuali bila kematian dipercepat dengan penambahan zat kimia toksik, panas atau radiasi. Kejadian di atas apabila digambarkan dalam bentuk kurva adalah sebagai berikut:



**Gambar 1.** Kurva pertumbuhan bakteri pada umumnya

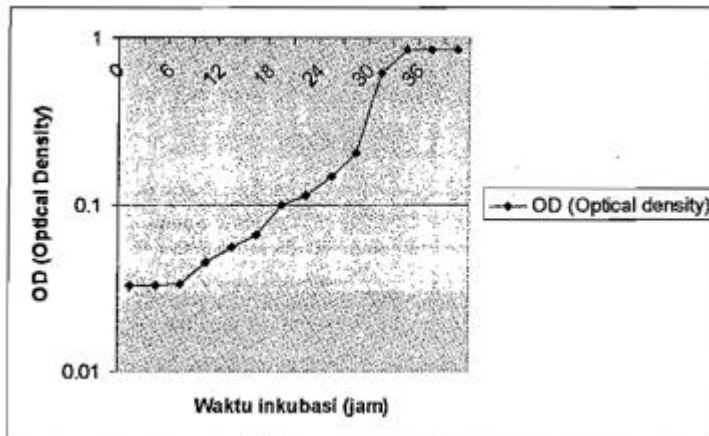
Ada empat fase pada pertumbuhan bakteri pada kurva di atas, yaitu

**Tabel 1.** Ciri dan fase pada kurva pertumbuhan

Fase Pertumbuhan	Ciri
<i>Lag</i> (lambat)	Tidak ada pertumbuhan populasi karena sel mengalami perubahan komposisi kimiawi dan ukuran serta bertambahnya substansi intraseluler sehingga siap untuk membelah diri.
<i>Logaritma</i> atau eksponensial	Sel membelah diri dengan laju yang konstan, massa menjadi dua kali lipat, keadaan pertumbuhan seimbang.
<i>Stationary</i> (stasioner/tetap)	Terjadinya penumpukan racun akibat metabolisme sel dan kandungan nutrisi mulai habis, akibatnya terjadi kompetisi nutrisi sehingga beberapa sel mati dan lainnya tetap tumbuh. Jumlah sel menjadi konstan.

<i>Death</i> (kematian)	Sel menjadi mati akibat penumpukan racun dan habisnya nutrisi, menyebabkan jumlah sel yang mati lebih banyak sehingga mengalami penurunan jumlah sel secara eksponensial.
-------------------------	---

Pada bakteri *Lactobacillus sp* kurva pertumbuhannya sedikit berbeda seperti gambar berikut.



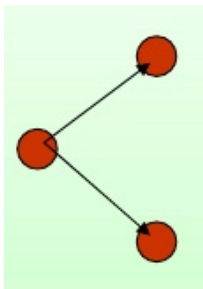
**Gambar 2.** Kurva pertumbuhan bakteri *Lactobacillus*

Diketahui bahwa inkubasi hingga 12 jam menunjukkan fase adaptasi sedangkan inkubasi hingga 24 jam menunjukkan fase logaritmik, kemudian pada inkubasi yang dilanjutkan hingga 33 jam menunjukkan fase logaritmik diperlambat akhirnya statis pada inkubasi 36 jam (Natsir dan Sartini, 2008).

Pengetahuan akan kurva pertumbuhan bakteri sangat penting untuk menggambarkan karakteristik pertumbuhan bakteri, sehingga akan mempermudah di dalam kultivasi (menumbuhkan) bakteri ke dalam suatu media, penyimpanan kultivasi dan penggantian media.

Pertumbuhan dapat diamati dari meningkatnya jumlah sel atau massa sel (berat kering sel). Pada umumnya bakteri dapat memperbanyak diri dengan

pembelahan biner, yaitu dari satu sel membelah menjadi 2 sel baru, maka pertumbuhan dapat diukur dari bertambahnya jumlah sel. Waktu yang diperlukan untuk membelah diri dari satu sel menjadi dua sel sempurna disebut waktu generasi. Waktu yang diperlukan oleh sejumlah sel atau massa sel menjadi dua kali jumlah/massa sel semula disebut doubling time atau waktu penggandaan. Waktu penggandaan tidak sama antara berbagai mikrobia, dari beberapa menit, beberapa jam sampai beberapa hari tergantung kecepatan pertumbuhannya. Kecepatan pertumbuhan merupakan perubahan jumlah atau massa sel per unit waktu. Adapun perhitungan pertumbuhan mikroba (Sumarsih, 2003):



**Gambar 3.** Pembelahan sel secara biner

1 sel menjadi 2 sel

2 sel menjadi 4 sel  $2^1$  menjadi  $2^2$  atau  $2 \times 2$

4 sel menjadi 8 sel  $2^2$  menjadi  $2^3$  atau  $2 \times 2 \times 2$

Dari hal tersebut dapat dirumuskan menjadi:

$$N = N_0 2^n$$

N: jumlah sel akhir,

$N_0$ : jumlah sel awal, n: jumlah generasi

Waktu generasi =  $t / n$

t: waktu pertumbuhan eksponensial, n: jumlah generasi

Dalam bentuk logaritma, rumus  $N = N_0 2^n$  menjadi:

$$\log N = \log N_0 + n \log 2$$

$$\log N - \log N_0 = n \log 2$$

$$n \log 2 = \log N - \log N_0$$

$$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2}$$

$$\log 2 = 0,301$$

Waktu generasi juga dapat dihitung dari slope garis dalam plot semilogaritma kurva pertumbuhan eksponensial, yaitu dengan rumus, slope = 0,301/ waktu generasi. Usaha pengendalian mikroorganisme dapat dilaksanakan apabila faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan atau perkembangbiakan mikroorganisme telah diketahui sebelumnya.

Menurut Yudhabuntara (2003) faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan umumnya dibagi ke dalam empat bahasan yaitu:

1. Faktor intrinsik

Faktor intrinsik meliputi pH, aktivitas air (activity of water, aw), kemampuan mengoksidasi-reduksi (redoxpotential, Eh), kandungan nutrien, bahan antimikroba dan struktur bahan makanan. Ukuran keasaman atau pH adalah log<sub>10</sub> konsentrasi ion hidrogen.

Lazimnya bakteri tumbuh pada pH sekitar netral (6,5 – 7,5).

Aktivitas air (aw) adalah jumlah air yang tersedia untuk

pertumbuhan mikrobial dalam pangan. Kemampuan mengoksidasi-reduksi (redoxpotential, Eh) adalah perbandingan total daya mengoksidasi (menerima elektron) dengan daya mereduksi (memberi elektron). Pertumbuhan mikroorganisme memerlukan air, energi, nitrogen, vitamin dan faktor pertumbuhan, mineral. Air yang tersedia untuk pertumbuhan mikroorganisme ditentukan oleh aw bahan makanan. Sebagai sumber energi, mikroorganisme memanfaatkan karbohidrat, alkohol dan asam amino yang terdapat dalam bahan makanan. Faktor pertumbuhan yang diperlukan adalah asam amino, purin dan pirimidin, serta vitamin. Struktur bahan makanan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme misalnya lemak karkas dan kulit pada karkas unggas dan karkas babi dapat melindungi daging dari kontaminasi mikroorganisme.

## 2. Faktor ekstrinsik

Faktor ekstrinsik yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme adalah suhu penyimpanan. Faktor luar lainnya yang pada prinsipnya berhubungan dengan pengaruh atmosferik seperti kelembaban, tekanan gas/keberadaan gas, juga cahaya dan pengaruh sinar ultraviolet.

## 3. Faktor proses

Semua proses teknologi pengolahan bahan makanan mengubah lingkungan mikro bahan makanan tersebut. Proses tersebut dapat berupa pemanasan, pengeringan, modifikasi pH, penggaraman,

curing, pengasapan, iradiasi, tekanan tinggi, pemakaian medan listrik dan pemberian bahan imbuhan pangan.

#### 4. Faktor implisit

Faktor lain yang berperan adalah faktor implisit yaitu adanya sinergisme atau antagonisme di antara mikroorganisme yang ada dalam “lingkungan” bahan makanan. Ketika mikroorganisme tumbuh pada bahan makanan, mikroorganisme tersebut akan bersaing untuk memperoleh ruang dan nutrisi. Dengan demikian akan terjadi interaksi di antara mikroorganisme yang berbeda. Interaksi ini dapat saling mendukung maupun saling menghambat (terjadi sinergisme atau antagonisme).

Bakteri merupakan organisme kosmopolit yang dapat kita jumpai di berbagai tempat dengan berbagai kondisi di alam ini. Mulai dari padang pasir yang panas, sampai kutub utara yang beku kita masih dapat menjumpai bakteri. Namun bakteri juga memiliki batasan suhu tertentu dia bisa tetap bertahan hidup, ada tiga jenis bakteri berdasarkan tingkat toleransinya terhadap suhu lingkungannya:

1. Mikroorganisme psikrofil yaitu mikroorganisme yang suka hidup pada suhu yang dingin, dapat tumbuh paling baik pada suhu optimum dibawah 20<sup>0</sup>C.
2. Mikroorganisme mesofil, yaitu mikroorganisme yang dapat hidup secara maksimal pada suhu yang sedang, mempunyai suhu optimum di antara 20<sup>0</sup>C sampai 50<sup>0</sup>C

3. Mikroorganisme termofil, yaitu mikroorganisme yang tumbuh optimal atau suka pada suhu yang tinggi, mikroorganisme ini sering tumbuh pada suhu diatas  $40^{\circ}\text{C}$ , bakteri jenis ini dapat hidup di tempat-tempat yang panas bahkan di sumber-sumber mata air panas bakteri tipe ini dapat ditemukan, pada tahun 1967 di Yellow Stone Park ditemukan bakteri yang hidup dalam sumber air panas bersuhu  $93-94^{\circ}\text{C}$ .

Dalam pertumbuhannya bakteri memiliki suhu optimum dimana pada suhu tersebut pertumbuhan bakteri menjadi maksimal.

Dengan membuat grafik pertumbuhan suatu mikroorganisme, maka dapat dilihat bahwa suhu optimum biasanya dekat puncak range suhu. Di atas suhu ini kecepatan tumbuh mikroorganisme akan berkurang. Metode pengukuran pertumbuhan yang sering digunakan adalah dengan menentukan jumlah sel yang hidup dengan jalan menghitung koloni pada pelat agar dan menentukan jumlah total sel/jumlah massa sel. Selain itu dapat dilakukan dengan cara metode langsung dan metode tidak langsung. Dalam menentukan jumlah sel yang hidup dapat dilakukan penghitungan langsung sel secara mikroskopik, melalui 3 jenis metode yaitu metode: pelat sebar, pelat tuang dan most-probable number (MPN). Penentuan jumlah total sel bakteri dapat menggunakan alat yang khusus yaitu bejana Petrof-Hausser atau hemositometer. Penentuan jumlah total sel juga dapat dilakukan dengan metode turbidimetri

yang menentukan: Volume sel mampat, berat sel, besarnya sel atau koloni, dan satu atau lebih produk metabolit. (Iqbalali, 2008).