

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Inokulum Probiotik

Inokulum merupakan kultur mikroba yang diinokulasikan kedalam medium pada saat kultur mikroba pada fase pertumbuhan (Suriawiria, 2005).

Inokulum probiotik mengandung bahan pengikat mikroba dan mengandung mikroba yang dapat melakukan fermentasi, salah satunya adalah terdapat pada ragi.

Ragi merupakan organisme fakultatif yang mempunyai kemampuan menghasilkan energi dari senyawa organik dalam kondisi aerob maupun anaerob sehingga ragi dapat tumbuh dalam kondisi ekologi yang berbeda (Winarno, 2004). Jenis ragi yang umum dikenal yaitu ragi tape dan ragi tempe.

Ragi tape berwujud padat dengan bentuk bulat pipih berwarna putih, sedangkan ragi tempe berbentuk bubuk. Ragi tape terdiri mikroba bibit atau disebut juga starter untuk membuat berbagai macam makanan fermentasi, seperti tape ketan atau singkong, tape ubi jalar, brem cair atau padat dan lainnya (Hidayat dkk, 2006).

Menurut Gandjar (2003), ragi tape terdiri dari kapang (*Rhizopus oryzae*, *Mucor*), khamir (*Sacharomyces cerevisiae*, *Sacharomyces verdomanni*, *Candida utilis*) dan bakteri (*Pediococcus* sp. dan *Bacillus* sp.).

Ragi tempe merupakan bibit yang dipergunakan untuk pembuatan tempe. Oleh karena itu sering pula disebut sebagai *starter tempe*. Ragi tempe mengandung jamur *Rhizopus* sp. yang dikenal pula sebagai jamur tempe. Jamur *Rhizopus* merupakan jamur yang paling dominan pada ragi tempe, berwarna putih dan memiliki miselia yang akan menghubungkan biji-biji kedelai menjadi tempe (Hidayat dkk, 2006).

Probiotik merupakan produk yang mengandung mikroorganisme hidup dan nonpatogen, yang diberikan pada hewan ternak untuk memperbaiki laju pertumbuhan, menstabilkan produksi pada ternak, efisiensi konversi ransum, meningkatkan penyerapan nutrisi, kesehatan hewan, menambah nafsu makan sehingga mempercepat peningkatan berat badan (Fuller, 1992). Menurut Soeharsono (2010) mikrobia yang digunakan sebagai probiotik adalah bakteri, khamir atau ragi, mould. Ahmad (2006) menyatakan bahwa probiotik merupakan salah satu pendekatan yang memiliki potensi dalam mengurangi infeksi unggas dan kontaminasi produk unggas

Pemberian probiotik secara nyata meningkatkan produksi serta menekan mortalitas (Kompiani, Supriyati dan Sjojfan, 2004). Probiotik sebagai mikroba hidup atau spora yang dapat hidup atau berkembang dalam usus, dan dapat menguntungkan inangnya baik secara langsung maupun tidak langsung dari hasil metabolitnya, sehingga mikroba yang menguntungkan dapat berkembang dengan baik (Kompiani, 2009). Tujuan utama pemberian probiotik pada ternak adalah untuk mengontrol ekosistem dalam saluran

pencernaan serta menjaga kesehatan usus agar proses penyerapan berlangsung dengan baik.

Menurut Fuller (1992), mikroba dikatakan sebagai probiotik jika :

1. Dapat diisolasi dari hewan inangnya
2. Menunjukkan pengaruh yang menguntungkan bagi inangnya
3. Tidak bersifat patogen
4. Dapat transit dan bertahan hidup di saluran pencernaan inangnya
5. Sejumlah mikroba harus mampu bertahan hidup pada periode yang lama selama penyimpanan

Prinsip kerja probiotik yaitu dengan memanfaatkan kemampuan mikroorganisme dalam memecah atau menguraikan rantai panjang karbohidrat, protein dan lemak yang menyusun pakan yang diberikan. Pemecahan molekul-molekul kompleks ini menjadi molekul sederhana jelas akan mempermudah pencernaan lanjutan dan penyerapan oleh saluran pencernaan hewan. Di sisi lain, mikroorganisme pelaku pemecah ini mendapat keuntungan berupa energi yang diperoleh dari hasil perombakan molekul kompleks tersebut (Effendi dan Suryadi, 2004).

Inokulum probiotik mengandung berbagai mikroba yang menguntungkan, salah satunya adalah bakteri amilolitik. Supaya bakteri amilolitik dalam inokulum probiotik tetap hidup, maka viabilitasnya perlu dijaga. Viabilitas merupakan kemampuan hidup suatu mikroba. Viabilitas mikroba dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi viabilitas mikroba menurut Fardiaz (1992) antara lain:

1. Suhu

Setiap bakteri memiliki temperatur optimal dimana mereka dapat tumbuh sangat cepat dan memiliki rentang temperatur dimana mereka dapat tumbuh. Pembelahan sel sangat sensitif terhadap efek kerusakan yang disebabkan temperatur, bentuk yang besar dan aneh dapat diamati pada pertumbuhan kultur pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur yang mendukung tingkat pertumbuhan yang sangat cepat.

Berdasarkan rentang temperatur dimana dapat terjadi pertumbuhan, bakteri dikelompokkan menjadi tiga:

1. Psikrofilik, bakteri yang tumbuh pada suhu -5°C - 30°C dan memiliki suhu optimum $10\text{-}20^{\circ}\text{C}$;
2. Mesofilik, bakteri yang tumbuh pada suhu $10\text{-}45^{\circ}\text{C}$ dan memiliki suhu optimum $20\text{-}40^{\circ}\text{C}$;
3. Termofilik, bakteri yang tumbuh pada suhu $25\text{-}80^{\circ}\text{C}$, dan memiliki suhu optimum $50\text{-}60^{\circ}\text{C}$.

Temperatur optimal biasanya mencerminkan lingkungan normal mikroorganisme.

2. Kelembaban

Air sangat penting untuk kehidupan bakteri terutama karena bakteri hanya dapat mengambil makanan dari luar dalam bentuk larutan (holophytis).

Semua bakteri tumbuh baik pada media yang basah dan udara yang lembab dan tidak dapat tumbuh pada media yang kering. Mikroorganisme mempunyai nilai kelembaban optimum.

Pada umumnya untuk pertumbuhan ragi dan bakteri diperlukan kelembaban yang tinggi diatas 85%, sedang untuk jamur diperlukan kelembaban yang rendah dibawah 80%.

3. Derajat Keasaman atau Kebasaan (pH)

Setiap organisme memiliki kisaran pH masing-masing dan memiliki pH optimum yang berbeda-beda. Kebanyakan bakteri hidup pada kisaran pH 6,5-7,5. Namun beberapa spesies dapat tumbuh dalam keadaan sangat asam atau sangat alkalin. Organisme eutrofil mempunyai pH lingkungan 6,0-8,0, organisme asidofil mempunyai pH lingkungan 2,0-5,0 dan organisme alkalofil mempunyai pH lingkungan 8,4-9,5 dalam kegiatan fisiologisnya.

B. Bakteri Amilolitik

Mikroorganisme yang bersifat amilolitik dapat memecah pati (amilum) yang terdapat dalam makanan menjadi senyawa yang lebih sederhana, terutama dalam bentuk glukosa. Amilolitik merupakan aktivitas bakteri dalam merombak pati dengan bantuan enzim amilase (Rehm dan Reed, 1987).

Amilum merupakan karbohidrat yang masuk dalam jenis polisakarida..

Beberapa polisakarida berfungsi sebagai materi simpanan atau cadangan yang nantinya ketika diperlukan akan dihidrolisis untuk menyediakan gula bagi sel. Amilum tidak dapat langsung digunakan, sehingga bakteri harus menghidrolisis amilum terlebih dahulu menjadi molekul sederhana dan masuk ke dalam sel ((Sukarminah, Sumanti dan Hanidah, 2010).

Bakteri yang tergolong bakteri amilolitik antara lain yaitu *Bacillus subtilis*, *Clostridium butyricum* dan *Staphylococcus aureus* *Bacillus macerans*, *Bacillus polimexa*, dan *Bacillus subtilis* yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim amilase (Fardiaz, 1992).

Bakteri yang memproduksi α -amilase sehingga mampu menguraikan amilum, diantaranya bakteri *Bacillus macerans*, *Bacillus polimexa*, dan *Bacillus subtilis* (Sukarminah dkk, 2010).

Bakteri amilolitik memiliki potensi untuk melakukan kolonisasi bakteri di usus pada saluran pencernaan ternak. Winarni (2011) mengatakan bahwa kolonisasi pada sistem pencernaan dengan prinsip *competitive* akan dapat mengeluarkan mikroba patogen dari dalam tubuh ternak.

Pengujian amilolitik dapat dilakukan dengan menggunakan suatu indikator yaitu iodine. Amilum akan bereaksi dengan iodine membentuk warna biru hitam yang terlihat pada media. Warna biru hitam terjadi ketika iodine masuk ke dalam bagian kosong pada amilum yang berbentuk spiral sehingga terbentuk kompleks berwarna. Bakteri yang mengandung enzim amilase ketika ditambahkan iodine akan membentuk zona bening. Menurut Fardiaz (1992) warna jernih atau bening pada sekeliling bakteri setelah ditambahkan iodine disebabkan karena amilum tidak dapat bereaksi lama dengan iodine. Areal berwarna coklat kemerahan di sekeliling koloni menunjukkan hidrolisis sebagian terhadap pati.

Bakteri *Bacillus* sp. merupakan salah satu komponen dari inokulum probiotik yang dapat menghasilkan berbagai jenis enzim yang mampu merombak zat makanan seperti karbohidrat, lemak dan protein menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga mudah diserap. Enzim amilase merupakan salah satu enzim yang dihasilkan bakteri *Bacillus* sp. (Buckle *et al.*, 2007).

Bakteri *Bacillus* sp. mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu *Eshericia coli* dan *Salmonella* sp. setelah dilakukan uji kontak pada media pakan ayam (Kurniawati, 2012).

Bakteri *Bacillus* sp. dapat menghasilkan antimikroba dan memiliki daya resisten terhadap antimikroba, sehingga bakteri ini mampu bertahan di dalam saluran pencernaan. Antimikroba yang dapat dihasilkan oleh bakteri *Bacillus* sp. adalah bakteriosin (Barbosa, Caudia, Roberto, Martin dan Adriano, 2005).

Bakteri *Bacillus* sp. mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut: warna koloni putih susu atau agak krem, bentuk koloni bulat dengan tepian keriput. Bakteri *Bacillus* sp. bersifat gram positif, suhu optimum pertumbuhannya adalah 30-37 °C (Effendi dan Suryadi, 2004).

C. Kemasan

Kemasan memiliki pengertian umum dan khusus. Dalam pengertian umum, kemasan adalah suatu benda yang digunakan untuk wadah atau tempat bahan yang dikemas dan dapat memberikan perlindungan sesuai dengan tujuannya. Dalam pengertian khusus, kemasan adalah wadah atau tempat yang digunakan untuk mengemas suatu komoditas dan telah dilengkapi dengan

tulisan atau label yang menjelaskan tentang isi, kegunaan dan lainnya yang perlu atau diwajibkan. Dengan adanya kemasan, benda tersebut bisa bertahan dan terlindungi terhadap sesuatu yang dapat merusak benda yang terdapat dalam kemasan tersebut (Syarief, Santausa dan Isyana, 1989).

1. Kertas

Kemasan kertas merupakan jenis pengemas yang berfungsi untuk membungkus pangan, baik sebagai kemasan primer, tersier, atau kuarterner. Kefleksibelan kertas menjadi daya tarik sebelum ditemukannya plastik dan alumunium foil. Dibandingkan kemasan jenis lain seperti logam dan plastik, harga kertas cenderung lebih murah, bahan bakunya-pun mudah diperoleh serta penggunaan kertas cukup luas di berbagai bidang (Coles *et al.*, 2003).

2. Aluminium

Menurut Lee (1991), aluminium adalah logam berwarna putih yang lembut dan ringan dengan keperakan yang lunak. Aluminium tidak bertoksik (dalam bentuk logam) dan tidak bermagnet. Bahan logam merupakan penghambat yang baik terhadap gas, uap air, jasad renik, debu dan kotoran sehingga cocok untuk kemasan. Bentuk kemasan dari bahan logam yang digunakan untuk bahan pangan yaitu alumunium foil (Moreira, Perez dan Barruifet, 1999). Penggunaan alumunium foil sebagai pembungkus kemasan pangan karena memiliki ketahanan yang tinggi terhadap gas dan uap air (Sugiyarto, 2001).

3. Plastik

Kemasan plastik merupakan kemasan yang paling banyak digunakan pada saat ini karena kelebihan dari kemasan plastik yang ringan, fleksibel, multiguna, kuat dan tidak karatan (Sulchan, 2007).

Penggunaan plastik sebagai pengemas untuk adalah melindungi produk terhadap cahaya, udara atau oksigen, perpindahan panas, kontaminasi dan kontak dengan bahan-bahan kimia. Plastik juga dapat mengurangi kecenderungan bahan pangan kehilangan sejumlah air dan lemak, serta mengurangi kecenderungan bahan pangan mengeras (Coles *et al.*, 2003).

D. Kandungan Bahan-Bahan Inokulum Probiotik

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan inokulum probiotik memiliki kandungan yang berbeda-beda, sehingga peran yang dihasilkan juga berbeda. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan inokulum probiotik dapat menjaga viabilitas bakteri amilolitik dari inokulum probiotik dalam jangka waktu yang lama. Adapun kandungan zat kimia yang terdapat pada bahan yang digunakan dalam pembuatan inokulum probiotik adalah sebagai berikut:

1. Jeruk Nipis

Jeruk nipis mengandung unsur-unsur senyawa kimia yang bermanfaat, meliputi asam sitrat, asam amino dan minyak atsiri, dimana senyawa tersebut bersifat asam sehingga memiliki kadar pH yang rendah dan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang tidak tahan asam (De Leo dan Del Bosco, 2005).

2. Tanaman Lengkuas

Senyawa kimia utama lengkuas adalah minyak atsiri. Minyak atsiri lengkuas mengandung 12 senyawa dan didominasi oleh sineol, karanol, dan farnesen. Rimpang lengkuas efektif untuk menghambat pertumbuhan jamur patogen, seperti *Microsporium gypseum*, *Cryptococcus neoformans*. Mekanisme penghambatan pertumbuhan ekstrak rimpang lengkuas yaitu melalui perusakan permeabilitas membran sel (Robinso, 1995).

3. Cabe Jawa

Cabe jawa mengandung bahan piperina, piperidinia, damar dan minyak atsiri. Minyak atsiri pada cabe jawa bermanfaat untuk menghambat pertumbuhan antibakteri dan antiseptic. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan senyawa fenolik bermolekul rendah (Rachmat, Hartati dan Wahyuono, 2000).

4. Bawang Putih

Bawang putih memiliki senyawa *Allicin* yang memberikan bau khas pada bawang putih. Senyawa *Allicin* yang dihasilkan pada bawang putih memiliki kemampuan sebagai antibakteri (Amagase, Petesch, kasuga dan Itakura, 2001).

5. Lada Putih

Komponen kimia yang terdapat pada lada putih adalah piperin, piperidin, lemak, asam piperat dan capsicum. Senyawa piper dan capsicum pada lada putih mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen dan dapat mencegah oksidasi lipid (Madigan, Michael dan Martinko, 2006).