

## Potensi Antifungi Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung terhadap Kapang *Aspergillus flavus*

### Potential Antifungal of Lactic Acid Bacteria from Digestive Tract of Kampung Chickens against *Aspergillus flavus*

**Novera Natasia, Siti Nur Jannah dan MG. Isworo Rukmi**

Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang

Jln. Prof. Soedarto, SH, Semarang, 50275, Telp: (024)7474754; Fax (024) 76480923

e-mail: noveranatasia@gmail.com, nurjannah.suroso@gmail.com, isworo.rukmi@gmail.com.

#### Abstract

Contamination of *Aspergillus flavus* can attacks food and feed ingredients, especially seeds during the storage. The using of biological agents, like microbes that have antifungal activity becomes a promising and important solution to be studied. This research aims to find out the antifungal activity of lactic acid bacteria (LAB) from digestive tract of “Kampung” chickens against the growing of *A. flavus*. Source of the isolates are from colon, ventriculus, and crop. The inoculums of LAB which using were suspension of cell and cell free supernatant (CFS). There were 6 isolates of LAB (Bub1, Bub3, Bub4, V52, C51, and NNB) tested to obtain the potential of antifungal activity, by with well diffusion and and submerged culture method. The results showed that the 5 isolates suspension cell of LAB showed inhibitory zones, except Bub1, whereas all CFS LAB showed the inhibitory zones against the growth of *A. flavus* in MRSA medium. Furthermore, antifungal activity of LAB against *A. flavus* to be observed by measuring the dry weight of the mycelium production, as well as the percentage of inhibition during the incubation period. All isolates of LAB, from suspension cell and CFS showing antifungal activity against growth of *A. flavus*. The Bub3 and NNB isolates, from suspension cell and CFS showed that the best antifungal activity compared to the others.

Keywords : *Antifungal, LAB from digestive tract kampung chickens, A. flavus, well diffusion, dry weight of mysellium*

#### Abstrak

Kontaminasi kapang *Aspergillus flavus* banyak menyerang bahan pangan dan pakan, khususnya biji-bijian pada saat proses penyimpanan. Hal ini dapat menurunkan kualitas bahan pangan dan pakan yang disimpan. Penggunaan agen biologis berupa mikroba yang memiliki aktivitas antifungi menjadi solusi menjanjikan dan penting untuk dikaji. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antifungi isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari saluran pencernaan ayam kampung terhadap pertumbuhan *A. flavus*. Isolat BAL pencernaan ayam kampung yang diujikan berasal dari bagian usus besar, ventrikulus, dan crop. Inokulum BAL yang digunakan, yaitu suspensi sel dan supernatan bebas sel (SBS). Sebanyak 6 isolat BAL (Bub1, Bub3, Bub4, V52, C51, dan NNB) diuji untuk mengetahui potensi aktivitas antifunginya dengan menggunakan metode difusi sumur dan kultur terendam. Hasilnya menunjukkan ke-5 suspensi sel isolat BAL membentuk zona hambat, kecuali Bub1, sedangkan semua SBS BAL menunjukkan terbentuknya zona hambat terhadap pertumbuhan *A. flavus* pada medium MRSA. Selanjutnya, aktivitas antifungi BAL terhadap *A. flavus* dilihat dengan mengukur berat kering miselium yang dihasilkan, serta persentase penghambatan selama masa inkubasi, menunjukkan bahwa ke-6 isolat BAL, baik suspensi sel maupun SBS memiliki aktivitas antifungi terhadap *A. flavus*. BAL Bub3 dan NNB, baik suspensi sel maupun SBS menunjukkan aktivitas antifungi paling baik dibandingkan isolat BAL lainnya.

Kata kunci : *Antifungi, BAL saluran pencernaan ayam kampung, A. flavus, difusi sumur, berat kering miselium*

## PENDAHULUAN

Pangan dan pakan merupakan bagian yang tidak dapat dipisahkan dari kehidupan manusia dan hewan. Penurunan kualitas bahan pangan dan pakan yang terjadi salah satunya disebabkan oleh pertumbuhan kapang yang banyak menyerang pada masa penyimpanan, seperti pada biji-bijian. Gudang sebagai tempat penyimpanan hasil panen sangat berpengaruh terhadap kualitas bahan yang disimpan. Penurunan kualitas yang terjadi selama masa penyimpanan dapat menimbulkan kerugian yang tidak kecil. Kapang *Aspergillus* dan *Penicillium* merupakan jenis kapang yang sering ditemui pada penyimpanan bahan pangan dan pakan. Kapang gudang ini berkembang dengan cepat menyebabkan penurunan kualitas bahan pangan dan pakan yang disimpan (Pitt & Hocking, 2009).

*A. flavus* umumnya ditemukan pada penyimpanan biji-bijian, khususnya kacang tanah (Gandjar *et al.*, 2000). Kontaminasi *A. flavus* menyebabkan infeksi serius pada manusia. *A. flavus* menghasilkan banyak konidiospora yang mudah dilepaskan ke lingkungan sekitarnya melalui perantara udara, sehingga mudah terhirup oleh manusia yang berdampak buruk terhadap kesehatan (Kavanagh, 2005). Upaya untuk mencegah pertumbuhan *A. flavus* salah satunya dengan menjaga  $a_w$  bahan pangan dan pakan yang disimpan dalam kondisi cukup rendah. Penyimpanan bahan pangan ataupun pakan dalam jangka waktu lama (1 tahun atau lebih), memerlukan kondisi penyimpanan dengan  $a_w$  di bawah 0,68; untuk penyimpanan 6 bulan  $a_w$  0,72; sedangkan  $a_w$  di atas 0,77 tidak aman atau rawan mengalami kontaminasi *A. flavus* kecuali dalam penyimpanan jangka pendek (Pitt & Hocking, 2009).

Salah satu cara untuk menghambat pertumbuhan kapang adalah dengan menggunakan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang merupakan mikroba pengawet alami (*biopreservative microorganism*) karena mampu menghasilkan metabolit yang bersifat antimikroba. Kemampuan BAL untuk menghasilkan senyawa antimikroba menyebabkan bakteri ini berpotensi menekan dan mengurangi jumlah kapang kontaminan pada biji-bijian. Beberapa penelitian

telah membuktikan bahwa beberapa isolat BAL menunjukkan aktivitas antifungi terhadap kapang gudang yang mengkontaminasi biji-bijian (Laref & Guessas, 2013; Yang & Clausen, 2005; Arasu *et al.*, 2013).

Bakteri asam laktat ditemukan di berbagai lingkungan yang memiliki nutrisi melimpah dan terdapat secara alami pada berbagai produk makanan, seperti susu, daging, dan sayuran. Salah satu habitat BAL adalah saluran pencernaan ayam. Nallala & Jeevaratnam (2015) berhasil mendapatkan 113 isolat BAL dari saluran pencernaan ayam broiler, 60 isolat diantaranya memiliki aktivitas antimikroba, dan 13 dari antara 60 isolat tersebut menunjukkan aktivitas antifungi yang baik terhadap kapang gudang. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dan mengingat bahwa penelitian mengenai potensi isolat BAL saluran pencernaan ayam sebagai antifungi belum begitu banyak dilakukan, maka akan dilakukan penelitian potensi antifungi terhadap isolat BAL dari saluran ayam kampung.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas antifungi isolat bakteri asam laktat saluran pencernaan ayam kampung terhadap kapang *A. flavus*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang. Data hasil pengujian dianalisis secara statistik menggunakan metode *One-Way ANOVA* dengan program SPSS (*Statistical Product Services Solution*) 16.0. Apabila hasil uji *ANOVA* pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Duncan*.

### 1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, tabung falcon, ose, *incubator shaker*, vorteks, mikropipet, tip, sentrifuge, *microwave oven*, *millipore filter*, corong, jangka sorong, *haemocytometer*, *cork borer*, mikroskop, gelas objek, *objective micrometer*.

Bahan yang digunakan yaitu 6 isolat BAL hasil isolasi dari saluran pencernaan ayam kampung (Bub1, Bub3, dan Bub4 berasal dari usus

besar; V52 berasal dari ventrikulus; C51 berasal dari crop; dan NNB berasal dari bagian saluran pencernaan lainnya), kapang *A. flavus* yang diperoleh dari FNCC UGM, medium MRS agar (Merck), medium MRS broth (Oxoid), medium PDA (Merck), kertas saring Whatman #1, membran filter Whatman 0,45  $\mu\text{m}$ , akuades, Nystatin, pewarna Gram, *lactophenol*, *cotton swab*.

## 2. Pemeriksaan Kemurnian Kultur Bakteri Asam Laktat

Enam isolat BAL masing-masing diinokulasikan pada medium MRSA yang mengandung  $\text{CaCO}_3$  1%, diinkubasi secara aerobik pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 48 jam. Isolat murni BAL yang didapat diamati untuk menentukan bahwa isolat tersebut adalah BAL. Pengamatan yang dilakukan meliputi makroskopis untuk melihat karakteristik morfologi koloni, yaitu bentuk koloni, warna, tepian, dan elevasi; pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram; dan uji katalase.

## 3. Pemeriksaan Kemurnian *A. flavus*

*A. flavus* diperiksa kemurniannya dengan pengamatan morfologi secara makroskopis meliputi warna koloni dan tekstur koloni, dan pengamatan mikroskopis meliputi ada tidaknya fialid, metula, kepala konidia (bentuk dan tipe), vesikel (bentuk dan ukuran), dan konidia (ukuran dan bentuk).

## 4. Pemeliharaan Kultur

*A. flavus* dipelihara pada medium PDA miring, diinkubasi pada suhu  $30^\circ\text{C}$  selama 5 hari sampai terbentuk spora, dan disimpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  sebagai kultur stok.

Isolat BAL dipelihara pada medium MRSA miring, diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 48 jam, dan disimpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  sebagai kultur stok.

## 5. Preparasi Suspensi Spora *A. flavus*

*A. flavus* diinokulasikan pada medium PDA miring, diinkubasi pada suhu  $30^\circ\text{C}$  selama 5 hari sampai membentuk spora. Spora dipanen dengan menambahkan akuades steril yang mengandung 0,1% Tween 80 dan digojog perlahan. Konsentrasi spora kapang *A. flavus* dihitung dengan menggunakan *counting chamber* untuk mendapatkan konsentrasi  $10^7$  spora/mL.

## 6. Preparasi Inokulum Bakteri Asam Laktat

Kultur BAL yang digunakan untuk perlakuan dalam bentuk suspensi sel BAL dan supernatan bebas sel (SBS). Isolat BAL pada medium MRSA berumur 48 jam diinokulasikan ke dalam 10 mL medium MRSB dalam tabung falcon dan diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Kultur BAL selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 2.000 rpm selama 45 menit dan disaring menggunakan *millipore filter* dengan ukuran pori 0,45  $\mu\text{m}$ . Kultur ini akan digunakan sebagai inokulum BAL pada tahap skrining.

## 7. Uji Aktivitas Antifungi

### a. Skrining Aktivitas Antifungi BAL

Suspensi spora *A. flavus* ( $10^7$  spora/mL) diinokulasi pada permukaan MRSA dalam cawan petri dengan *cotton swab* steril, selanjutnya permukaan medium dibuat sumuran dengan diameter 6 mm dengan menggunakan *cork borer* steril, masing-masing 5 sumuran setiap cawan petri. Sebanyak 40  $\mu\text{L}$  suspensi sel BAL dimasukkan ke dalam 3 sumuran, 1 sumuran digunakan sebagai kontrol positif dengan ditambah 40  $\mu\text{L}$  larutan Nystatin 40  $\mu\text{g/mL}$ , dan 1 sumuran digunakan sebagai kontrol negatif dengan ditambah 40  $\mu\text{L}$  MRSB. Hal yang sama dilakukan untuk SBS BAL. Cawan petri diinkubasi pada suhu  $30^\circ\text{C}$  selama 72 jam. Aktivitas antifungi ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat, yang selanjutnya diukur menggunakan jangka sorong.

### b. Aktivitas Antifungi BAL terhadap *A. flavus* dengan Kultur Terendam

Isolat BAL pada medium MRSA berumur 48 jam diinokulasikan ke dalam medium MRSB 100 mL, diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  dan *dishaker* dengan kecepatan 200 rpm selama 24 jam. Kultur BAL kemudian dibagi menjadi 2 secara aseptik ke dalam erlenmeyer steril masing-masing 50 mL. Lima puluh mL kultur selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 2.000 rpm selama 45 menit untuk mendapatkan SBS BAL dan disaring menggunakan *millipore filter* dengan ukuran pori 0,45  $\mu\text{m}$ . Suspensi sel BAL dan SBS BAL masing-masing dimasukkan dalam erlenmeyer sebanyak 10 mL dan diinokulasi dengan 1% suspensi spora ( $10^7$  spora/mL), sebagai kontrol digunakan suspensi spora yang diinokulasikan ke dalam medium MRSB. Seluruh perlakuan diinkubasi pada suhu  $30^\circ\text{C}$  selama 7 hari. Miselium kapang

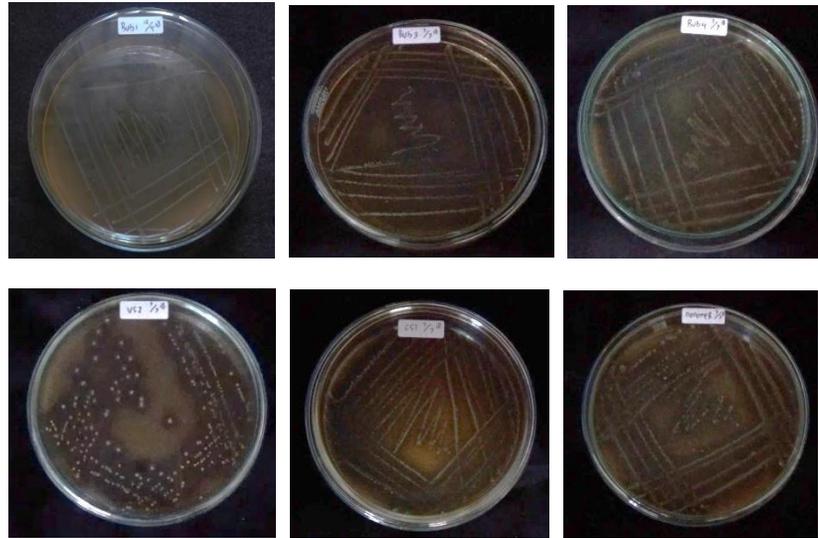
dipanen dengan cara menyaring kultur menggunakan kertas saring Whatman #1, dan dikeringkan pada suhu 50°C selama 2 hari, atau sampai beratnya konstan.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**1. Pemeriksaan Kemurnian Bakteri Asam Laktat**

Seluruh isolat BAL menunjukkan adanya zona bening di sekitar koloni pada medium MRSA (Gambar 1.), hal ini

menunjukkan bahwa semua isolat yang diperiksa adalah benar BAL. Menurut Dewi (2012) BAL akan membentuk koloni berwarna putih dengan zona bening di sekitarnya pada medium MRSA dengan penambahan CaCO<sub>3</sub> 1% pada inkubasi selama 1-2 hari. Asam yang dihasilkan oleh bakteri akan bereaksi dengan CaCO<sub>3</sub>, sehingga menghasilkan Ca-laktat yang larut dalam medium dan terlihat zona bening.



Gambar 1. Isolat Murni BAL Saluran Pencernaan Ayam Kampung

Hasil pengamatan morfologi koloni dan sel dari ke-6 isolat BAL pada medium MRSA yang

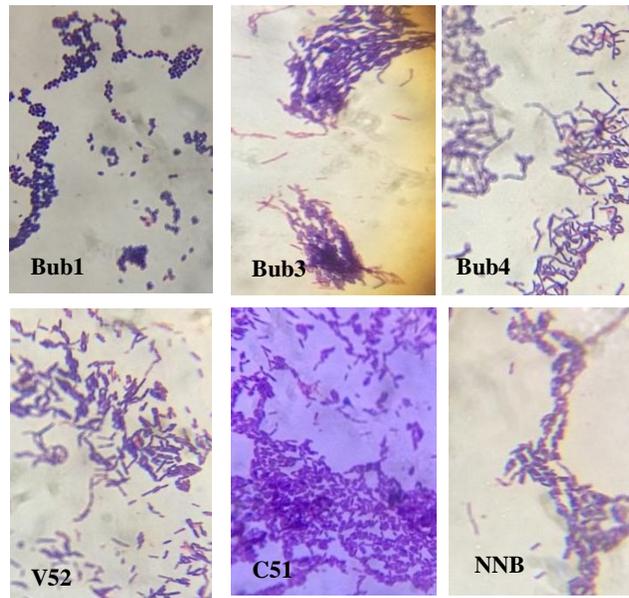
mengandung CaCO<sub>3</sub> 1 % dapat dilihat pada Tabel 1. dibawah ini

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Koloni dan Sel Isolat BAL Saluran Pencernaan Ayam Kampung

Kode Isolat	Morfologi Koloni				Morfologi Sel	
	Bentuk Koloni	Tepian	Warna	Elevasi	Bentuk Sel	Gram
Bub1	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	Bulat	Positif
Bub3	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	Batang	Positif
Bub4	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	Batang	Positif
V52	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	Batang	Positif
C51	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	Batang	Positif
NNB	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	Batang	Positif

Semua isolat BAL merupakan bakteri gram positif dengan bentuk sel bakteri yang beragam. Satu isolat yaitu Bub1 berbentuk bulat (kokus), sedangkan ke-5 isolat lain berbentuk batang (basil). Uji katalase menunjukkan bahwa semua isolat BAL tidak menghasilkan katalase, yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung udara. Hasil pengamatan terhadap sifat gram dan kemampuan menghasilkan katalase memenuhi karakter dari BAL, menurut Holzapfel & Wood

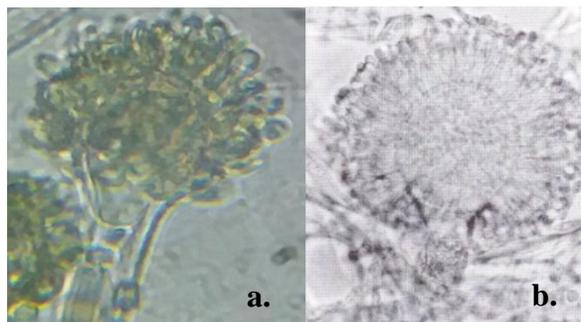
(2014) sel BAL berbentuk sel batang atau bulat, katalase negatif, dan Gram positif. Holzapfel (2012) menyatakan terdapat variasi karakteristik BAL yang dapat terjadi, namun yang mutlak adalah sifatnya sebagai bakteri gram positif. Bakteri asam laktat yang selnya berbentuk batang adalah *Lactobacillus* dan yang berbentuk bulat, merupakan genus *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, dan *Pediococcus* (Salminen *et al.*, 2004).



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram BAL Saluran Pencernaan Ayam Kampung Perbesaran 1000x

## 2. Pemeriksaan Kemurnian *A. flavus*

Hasil pengamatan morfologi *A. flavus* secara mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 3.



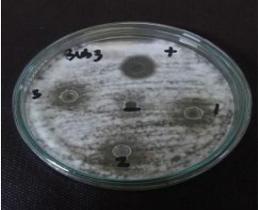
Gambar 3. Morfologi mikroskopis *A. flavus* (a.) Kepala konidia (400x) (b.) Referensi (3000x) (Klich, 2002)

Hasil pengamatan makroskopis *A. flavus* menunjukkan, koloni berwarna hijau zaitun dan bertekstur granular atau berbutir-butir. Kepala konidiana *radiate* dengan tipe *uniseriate*, konidia berbentuk *globose* berukuran 5 µm, konidiofor tidak berwarna berukuran 550 µm, dan vesikel berbentuk *spherical* berukuran 22,5 µm. Hasil pengamatan tersebut sesuai dengan karakteristik mikroskopis *A. flavus* yang dinyatakan oleh Klich (2002), yaitu kepala konidia berbentuk *radiate* hingga *columnar*, konidia berbentuk *globose* hingga *ellipsoidal* berukuran 3-8 µm, konidiofor berukuran 400-800 µm tidak berwarna atau coklat pucat, dan vesikel berbentuk *spherical* hingga *elongate* dengan ukuran 20-45 µm.

### 3. Skrining Aktivitas Antifungi dari Bakteri Asam Laktat

Hasil skrining aktivitas antifungi BAL saluran pencernaan ayam kampung terhadap *A. flavus* dapat dilihat pada Tabel 2. yang menunjukkan adanya aktivitas antifungi terhadap *A. flavus* dari 5 suspensi sel BAL yang diteliti, yaitu Bub3, Bub4, V52, C51, dan NNB. Hal ini ditandai dengan menipisnya pertumbuhan *A. flavus* di sekitar sumuran yang mengandung suspensi uji, sedangkan semua SBS isolat BAL menunjukkan adanya aktivitas antifungi (Tabel 2.). Kelima suspensi sel isolat BAL yang menunjukkan aktivitas antifungi tersebut memiliki sel berbentuk batang (Gambar 2), hasil ini sama dengan penelitian Nallala dan Jeevaratman (2015), yang menemukan isolat BAL berbentuk batang dari saluran pencernaan ayam broiler memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kapang *Aspergillus* dan *Penicillium*

Tabel 2. Skrining Aktivitas Antifungi BAL Saluran Pencernaan Ayam Kampung terhadap *A. flavus*

Suspensi Sel BAL		SBS BAL	
			
Bub1	V52	Bub1	V52
			
Bub3	C51	Bub3	C51
			
Bub4	NNB	Bub4	NNB

Keterangan :

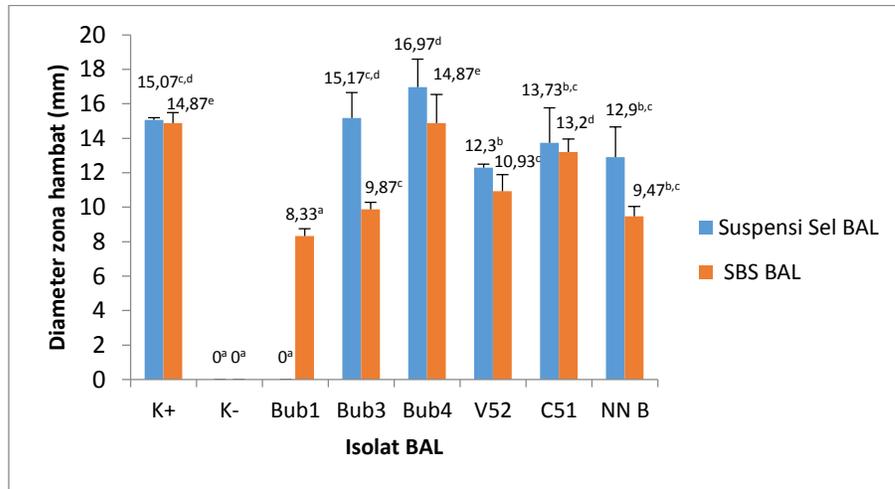
Kontrol + : Nystatin 40 µg/mL di dalam medium MRSA

- Kontrol - : MRSB di dalam medium MRSA
- Bub1 : Isolat BAL dari usus besar di dalam medium MRSA
- Bub3 : Isolat BAL dari usus besar di dalam medium MRSA
- Bub4 : Isolat BAL dari usus besar di dalam medium MRSA
- V52 : Isolat BAL dari ventrikulus di dalam medium MRSA
- C51 : Isolat BAL dari crop di dalam medium MRSA
- NNB : Isolat BAL dari bagian lainnya di dalam medium MRSA

Aktivitas antifungi terhadap *A. flavus* dari suspensi sel maupun SBS isolat BAL saluran pencernaan ayam kampung merupakan jenis penghambatan parsial, senyawa bersifat fungistatik. Hal ini dapat disimpulkan dari terjadinya penipisan pertumbuhan di sekitar sumuran, dan bukan zona bening (Tabel 2.). Kontrol positif Nystatin menunjukkan penghambatan total atau bersifat fungisidik, karena terjadi zona bening di sekitar sumuran. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Semis *et al.* (2010) bahwa Nystatin

dengan konsentrasi 40 µg/mL bersifat fungisidik, mekanisme penghambatan yang terjadi karena sel *A. flavus* mengalami lisis. Zona hambat total adalah daerah jernih di sekitar sumuran yang menunjukkan adanya senyawa bioaktif yang mampu membunuh jamur uji, sedangkan zona hambat parsial adalah daerah dengan pertumbuhan jamur uji yang lebih sedikit / tipis di sekitar sumuran, hal ini menunjukkan senyawa bioaktif menghambat pertumbuhan mikroba uji (Poeloengan, 2009)

Gambar 4. Diameter Zona Hambat Isolat BAL Saluran Pencernaan Ayam Kampung terhadap *A. flavus* pada Medium MRSA, Inkubasi 72 jam



Keterangan :

- Kontrol + : Nystatin 40 µg/mL
- Kontrol - : MRSB
- Bub1 : Isolat BAL dari usus besar
- Bub3 : Isolat BAL dari usus besar
- Bub4 : Isolat BAL dari usus besar
- V52 : Isolat BAL dari ventrikulus
- C51 : Isolat BAL dari crop
- NNB : Isolat BAL dari bagian lainnya

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada isolat BAL menunjukkan perbedaan tidak nyata.

Gambar 4. menunjukkan bahwa semua isolat BAL mempunyai aktivitas antifungi terhadap *A. flavus*, baik suspensi sel maupun SBS, kecuali isolat Bub1 hanya SBS yang menunjukkan adanya aktivitas antifungi. Isolat Bub 1 menunjukkan pertumbuhan koloni yang tipis pada medium MRSA, dibandingkan dengan isolat BAL saluran pencernaan ayam kampung lainnya (Gambar 1.).

Kemungkinan isolat Bub1 bersifat anaerob fakultatif, karena dari pengamatan visual pertumbuhan pada medium MRSA terlihat sangat tipis. Holzapfel & Wood (2014) menyatakan bahwa BAL termasuk bakteri anaerob fakultatif, dan beberapa bersifat mikroaerofil. Sifat ini akan menyebabkan pertumbuhan yang lambat pada kondisi aerob. Pada penelitian ini, skrining aktivitas antifungi dilakukan dalam kondisi aerob, sehingga terdapat kemungkinan BAL anaerob fakultatif pertumbuhannya tidak terlalu baik yang akan mengakibatkan rendahnya produksi metabolit yang dihasilkan. Aktivitas antifungi terbesar terhadap *A. flavus* baik dari suspensi sel maupun SBS, ditunjukkan oleh isolat BAL Bub4, yang berbeda nyata dengan isolat BAL lainnya ( $P < 0,05$ ).

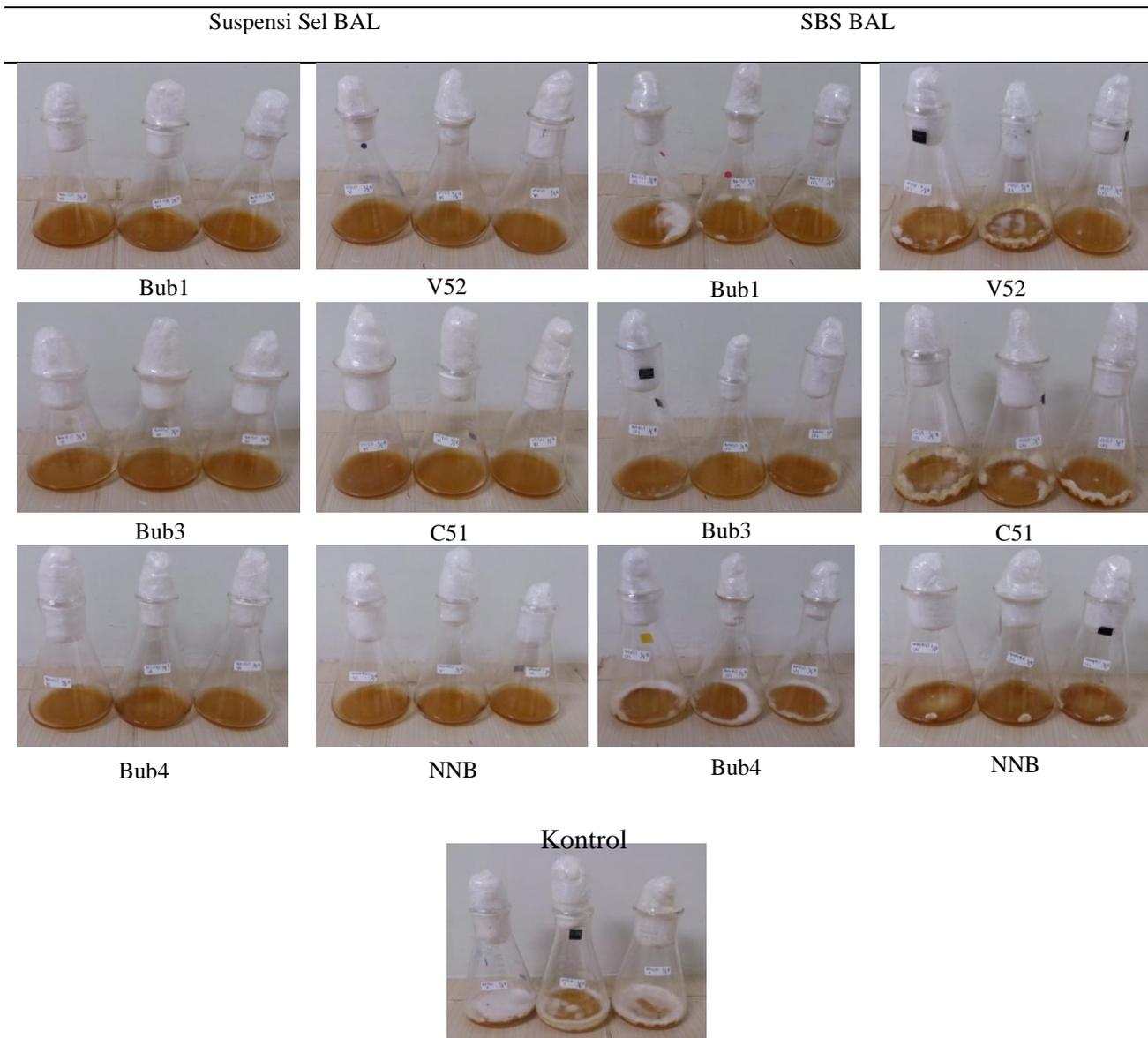
Berdasarkan besarnya zona hambat yang terbentuk terlihat bahwa aktivitas antifungi suspensi sel BAL lebih besar dibandingkan SBS BAL (Gambar 4.). Aktivitas antifungi suspensi sel

BAL terhadap *A. flavus* dipengaruhi oleh kemampuan sel dalam menghasilkan metabolit. Penggunaan medium MRS, yang merupakan medium khusus untuk BAL menyebabkan bakteri mampu melakukan metabolisme normal dan menghasilkan metabolit. Menurut Magnusson & Schnurer (2001) sel BAL akan menghasilkan senyawa antifungi berupa asam organik dan bakteriosin, pada awal dan selama fase pertumbuhan eksponensial, produksi maksimum tercapai pada awal fase stasioner, setelah itu aktivitasnya cepat menurun. Aktivitas antifungi SBS BAL terhadap *A. flavus* kemungkinan disebabkan oleh adanya metabolit yang terkandung di dalam SBS, karena menurut Ilavenil *et al.* (2015) SBS BAL mengandung metabolit berupa asam organik, seperti asam laktat, asam asetat, dan asam suksinat yang bersifat antifungi.

#### **4. Aktivitas Antifungi Bakteri Asam Laktat terhadap Pertumbuhan *A. flavus***

Aktivitas antifungi BAL saluran pencernaan ayam kampung terhadap *A. flavus* dalam kultur terendam MRSB diamati dari berat kering miselium yang dihasilkan, serta persentase penghambatan selama masa inkubasi, seperti terlihat pada Tabel 3. Hasil pengamatan menunjukkan terdapat perbedaan pertumbuhan *A. flavus* pada MRSB kontrol dan perlakuan.

Tabel 3. Aktivitas Antifungi BAL Saluran Pencernaan Ayam Kampung terhadap *A. flavus*



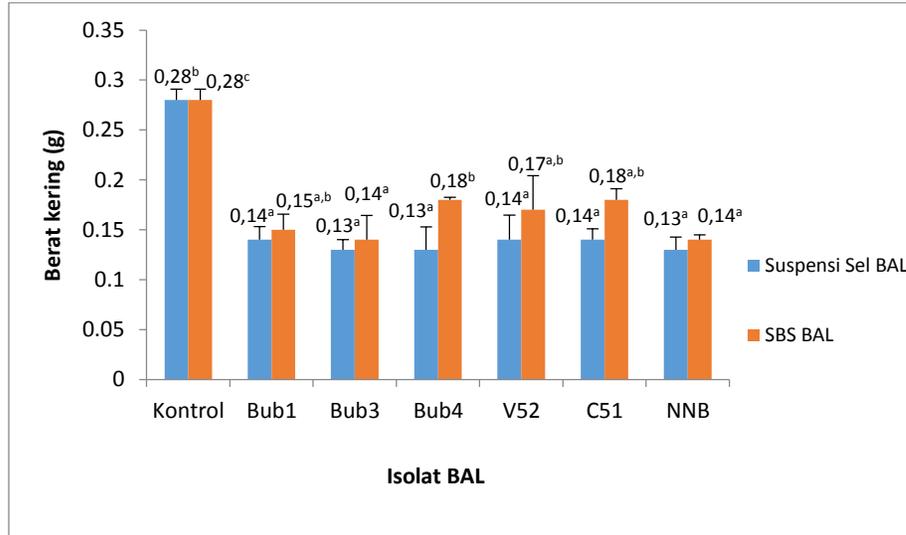
Tabel 3. secara visual menunjukkan perbedaan pertumbuhan *A. flavus* pada perlakuan kontrol (MRSB) dibandingkan dengan perlakuan suspensi sel BAL dan SBS BAL, hal ini menunjukkan adanya pengaruh suspensi BAL dan SBS BAL saluran pencernaan ayam kampung terhadap pertumbuhan *A. flavus*. Pertumbuhan *A. flavus* terlihat lebih terhambat pada suspensi sel BAL, dibandingkan dengan pada SBS BAL. Penghambatan pertumbuhan *A. flavus* ditegaskan

lebih lanjut dengan mengukur berat kering miselium yang dihasilkan pada medium kontrol dan medium perlakuan. Hasil pengukuran berat kering miselium *A. flavus* pada kultur terendam suspensi sel BAL dan SBS BAL disajikan dalam bentuk diagram batang pada Gambar 5.

Data berat kering miselium pada suspensi sel BAL dan SBS BAL selanjutnya dianalisis dengan ANOVA, hasilnya menunjukkan terdapat perbedaan nyata pertumbuhan pada medium

kontrol dan perlakuan ( $P < 0,05$ ). Uji lanjut *Post Hoc Duncan*, menunjukkan bahwa aktivitas antifungi BAL terhadap *A. flavus* dari masing-masing suspensi isolat sel BAL yang diuji berbeda

tidak nyata ( $P > 0,05$ ), sedangkan untuk SBS BAL, terdapat perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ) antara isolat Bub3 dan NNB dengan SBS isolat BAL lainnya



Gambar 5. Berat Kering *A. flavus* oleh BAL Saluran Pencernaan Ayam Kampung pada Medium MRSB, Inkubasi 7 hari

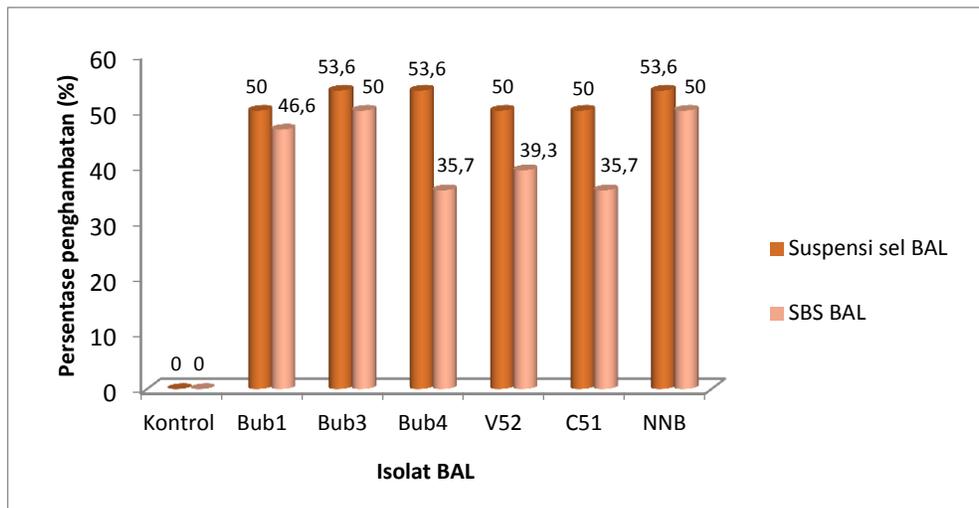
Keterangan :

- Kontrol : Suspensi spora *A. flavus* 1%
- Bub1 : Isolat BAL dari usus besar + suspensi spora *A. flavus* 1%
- Bub3 : Isolat BAL dari usus besar + suspensi spora *A. flavus* 1%
- Bub4 : Isolat BAL dari usus besar + suspensi spora *A. flavus* 1%
- V52 : Isolat BAL dari ventrikulus + suspensi spora *A. flavus* 1%
- C51 : Isolat BAL dari crop + suspensi spora *A. flavus* 1%
- NNB : Isolat BAL dari bagian lainnya + suspensi spora *A. flavus* 1%

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada isolat BAL menunjukkan perbedaan tidak nyata

Besarnya aktivitas antifungi suspensi sel BAL dan SBS BAL dapat diamati pula dengan nilai persentase penghambatan pertumbuhan *A.*

*flavus* pada suspensi sel maupun SBS isolat BAL, seperti terlihat pada Gambar 6. di bawah ini :



Gambar 6. Persentase Penghambatan *A. flavus* oleh BAL Saluran Pencernaan Ayam Kampung pada Medium MRSB, Inkubasi 7 hari

Keterangan :

- Kontrol : Suspensi spora *A. flavus* 1%
- Bub1 : Isolat BAL dari usus besar + suspensi spora *A. flavus* 1%
- Bub3 : Isolat BAL dari usus besar + suspensi spora *A. flavus* 1%
- Bub4 : Isolat BAL dari usus besar + suspensi spora *A. flavus* 1%
- V52 : Isolat BAL dari ventrikulus + suspensi spora *A. flavus* 1%
- C51 : Isolat BAL dari crop + suspensi spora *A. flavus* 1%
- NNB : Isolat BAL dari bagian lainnya + suspensi spora *A. flavus* 1%

Aktivitas antifungi suspensi sel BAL terhadap *A. flavus* dalam medium MRSB dipengaruhi oleh kemampuan sel dalam menghasilkan metabolit, serta terjadinya kompetisi antara sel BAL dengan *A. flavus* dalam menggunakan nutrisi di dalam medium MRSB yang digunakan. Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian Yang & Clausen (2005) bahwa supernatan *L. casei* subsp. *rhamnosus* dan *L. acidophilus* pada MRSB menunjukkan aktivitas antifungi terhadap *A. niger* dan *P. chrysogenum*, hal ini bukan hanya disebabkan oleh adanya kekurangan nutrisi dalam medium, namun juga dipengaruhi adanya beberapa metabolit yang dihasilkan oleh *L. casei* subsp. *rhamnosus* dan *L. Acidophilus* yang bersifat menghambat pertumbuhan *A. niger* dan *P. Chrysogenum*. Aktivitas antifungi terhadap *A. flavus* yang ditunjukkan oleh SBS isolat BAL yang diteliti, kemungkinan juga disebabkan oleh adanya metabolit yang dihasilkan oleh *L. casei* subsp. *rhamnosus* dan *L. Acidophilus* yang terkandung dalam medium yang digunakan. Menurut Arasu et

al. (2013) penghambatan pertumbuhan *A. clavatus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. oryzae*, *A. pullulans*, *B. cinerea*, *B. Elliptica*, *C. albicans*, *C. acuminatus*, *C. lunata*, *E. floccosum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *G. moniliformis*, *H. grisea*, *P. chrysogenum*, *P. roqueforti*, *S. lignicola*, *S. vaccinii*, *S. brevicaulis*, *S. fusca*, *T. mentagrophytes*, dan *T. roseum* disebabkan oleh adanya senyawa metabolit yang terkandung dalam SBS *Lactobacillus* sp. KCC-10, bukan oleh pemberian perlakuan campuran asam organik seperti asam asetat, laktat asam, dan asam suksinat pada medium

## KESIMPULAN

Isolat BAL saluran pencernaan ayam kampung memiliki potensi antifungi terhadap kapang *A. flavus*. Aktivitas antifungi paling baik ditunjukkan oleh isolat BAL Bub3 dan NNB, baik suspensi sel maupun supernatan bebas sel.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Susiana Purwantisari, M.Si atas diskusi dalam penyelesaian tulisan ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arasu, M.V., M.W. Jung, S. Ilavenil, M. Jane, D.H. Kim, K.D. Lee, H. Park, T.Y. Huh, G.J. Choi, Y.C. Lim, N.A. Al-Dhabi, K.C. Choi, 2013. *Isolation and Characterization of Antifungal Compound from Lactobacillus*. Republic of Korea.
- Dewi, S.S. and H. Anggraini. 2012. Viabilitas Bakteri Asam Laktat Asal Asi Terhadap pH Asam Lambung dan Garam Empedu. *Seminar Hasil-Hasil Penelitian*. Semarang.
- Gandjar, I., R.A. Samson, K.V.D.T. Vermeulen, A. Oetari, and I. Santoso. 2000. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Holzappel, W.H. 2012. *Genera of Lactic Acid Bacteria*. New York : Springer.
- \_\_\_\_\_ and B.J.B. Wood. 2014. *Lactic Acid Bacteria Biodiversity and Taxonomy*. West Sussex : John Wiley & Sons, Ltd.
- Ilavenil, S, H.S. Park, M. Vijayakumar, M.V. Arasu, D.H. Kim, S. Ravikumar, and K.C. Choi. 2015. Probiotic Potential of *Lactobacillus* Strains with Antifungal Activity Isolated from Animal Manure. *The Scientific World Journal* (2015) : 1-10.
- Kavanagh, K. 2005. *Fungi Biology and Application*. England : John Wiley & Sons Ltd.
- Klich, M.A. 2002. *Identification of Common A. Species*. Netherlands : Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Laref, N. and B. Guessas. 2013. Antifungal Activity of Newly Isolates of Lactic Acid. *Innovative Romanian Food Biotechnology*. 13: 80-88.
- Magnusson, J and J. Schnurer. 2001. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* Strain Si3 Produces a Broad-Spectrum Proteneous Antifungal Compound. *American Society for Microbiology*. 67 : 2-5.
- Nallala, V. and K. Jeevaratnam. 2015. Molecular Characterization of Bacteriocinogenic, Antifungal and Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from Chicken Gastrointestinal Tract. *Advances in Microbiology*. 5: 664-660.
- Pitt, J.I. and A.D. Hocking. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. New York : Springer.
- Poeloengan, M. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Miana (*Coleus seutellarioides* (L.) Benth) terhadap Bakteri *Salmonella enteritidis* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biotika*. 7(2): 61-68.
- Salminen, S., A.V. Wright, and A. Ouwehand. 2004. *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*. New York : Marcel Dekker, Inc.
- Semis, R., I. Polacheck, and E. Segel. 2010. Nystatin-Intralipid Preparation: Characterization and In Vitro Activity Against Yeast and Molds. *Mycopathologia* 169 : 333-341.
- Yang, W.V. and C.A. Clausen. 2005. Determining The Suitability of Lactobacilli Antifungal Metabolites for Inhibiting Mould Growth. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* (21) : 977-981.