

Efek Pemberian Pakan dengan Tambahan Overripe Tempe terhadap Jumlah Escherichia coli dan Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Ayam Petelur

Khoirun Najah*, Siti Harnina Bintari

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia
Gedung D7 Lt.1, Kampus Sekaran Gunungpati, Semarang 50229
*E-mail: khoirunnajah2706@gmail.com

Diterima 5 Januari 2021

Disetujui 31 Maret 2021

Dipublikasikan 30 April 2021

Abstrak

Overripe tempe memiliki kandungan nutrisi dan komponen bioaktif yang dihasilkan bakteri asam laktat dan kapang *Rhizopus oligosporus*. Bakteri asam laktat (BAL) dapat menghasilkan beberapa senyawa metabolit, seperti hidrogen peroksida, diasetil, asam laktat dan bakteriosin. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek pemberian pakan dengan tambahan overripe tempe terhadap jumlah total *Escherichia coli* dan BAL pada ayam petelur. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor dengan 4 kelompok perlakuan masing-masing 7 kali pengulangan. Penelitian ini menggunakan 28 ekor ayam petelur umur 94 minggu. Pemberian perlakuan pakan dengan tambahan overripe tempe terdiri atas P0 (pakan tanpa overripe tempe), P1 (overripe tempe 7,5%), P2 (overripe tempe 15%) dan P3 (overripe tempe 22,5%). Parameter yang diamati adalah penurunan *E. coli* dan peningkatan BAL pada hari ke-20 dan ke-40. Data hasil penelitian dianalisis dengan Anova dan dilanjutkan dengan uji Tuckey dengan signifikansi 5%. Hasil penelitian pada hari ke-20 menunjukkan pemberian overripe tempe berpengaruh terhadap penurunan *E. coli* dan peningkatan BAL. Pada hari ke-40, pemberian overripe tempe berpengaruh terhadap penurunan *E. coli* namun tidak berpengaruh terhadap peningkatan BAL. Simpulan dari penelitian ini yaitu pemberian overripe tempe yang optimal pada feses ayam petelur fase layer adalah 7,5%.

Kata kunci: *BAL*, *E. coli*, overripe tempe

Abstract

Overripe tempe contains nutrients and bioactive components obtained from lactic acid bacteria and Rhizopus oligosporus mold. Lactic acid bacteria (LAB) can produce several metabolites, such as hydrogen peroxide, diacetyl, lactic acid and bacteriocins. This study aims to examine the effect of feeding with the addition of overripe tempe on the total amount of Escherichia coli and lactic acid bacteria in laying hens. This study used a one-factor completely randomized design (CRD) with 4 treatment groups with 7 repetitions. This study used laying hens that were 94 weeks old and totaled 28 chickens. Provision of feed treatment with additional overripe tempe consisted of P0 (feed without overripe tempe), P1 (giving overripe tempe 7,5%), P2 (giving overripe tempe 15%) and P3 (giving overripe tempe 22,5%). The parameters observed were a decrease in Escherichia coli and an increase in lactic acid bacteria on the 20th and 40th days. The research data were analyzed using the Anova test at 5% significance, if the results had a significant effect, then the Tuckey test was followed with a significance of 5%. The results of the study on the 20th day showed that giving overripe tempe influenced on decreasing E. coli bacteria and influenced increasing LAB. The results of the study on the 40th day showed that giving overripe tempe influenced on reducing E. coli bacteria but did not affect the increase in LAB. The conclusion from this research is that the optimal application of overripe tempe in layer phase layer chicken feces is 7,5%.

Key words: *BAL*, *E. coli*, overripe tempe

How to cite:

Najah K., & Bintari S.H. (2021). Efek pemberian pakan dengan tambahan overripe tempe terhadap jumlah escherichia coli dan bakteri asam laktat (BAL) pada ayam petelur. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 44(1), 39-46

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil tempe terbesar di dunia. Rata-rata masyarakat Indonesia mengkonsumsi tempe per tahun sekitar 64,5 kg (Winanti *et al.*, 2014). Tempe

dibuat dari bahan baku kedelai melalui proses fermentasi menggunakan kapang *Rhizopus sp.* Menurut WHO, tempe merupakan makanan yang memiliki nilai gizi cukup tinggi. Tempe kaya akan manfaat, diantaranya antioksidan, mengurangi risiko penyakit jantung, mencegah kanker, membalikkan efek endometriosis, mencegah osteoporosis, menjaga berat badan, memberi efek baik untuk diabetes dan sakit ginjal (Widodo & Santoso, 2020). Selain itu, tempe juga bermanfaat dalam menurunkan kadar kolesterol, antidiare khususnya bakteri *E. coli* enteropatogenik (Anggraeny *et al.*, 2011).

Menurut Rachmawati *et al.* (2019), tempe yang sering dikonsumsi masyarakat merupakan hasil fermentasi di hari kedua. Sementara tempe yang melebihi hari kedua dinamakan *overripe tempe*. *Overripe tempe* kurang diminati dibandingkan tempe segar, dikarenakan rasa, warna dan bau yang berbeda dengan tempe segar. Penelitian tentang *overripe tempe* masih sedikit, sehingga perlu penelitian *overripe tempe* sebagai tambahan pakan ternak. Tempe yang sudah tidak layak konsumsi, tergolong limbah yang dapat dimanfaatkan untuk tambahan pakan ternak, khususnya ayam petelur. Tempe yang digunakan sebagai tambahan pakan ternak adalah tempe yang berusia 3 hari (dihitung setelah tempe sudah matang sempurna) dengan ciri berwarna kecoklatan, sedikit lembek, berbau tidak sedap.

Overripe tempe adalah tempe yang mengalami fermentasi lanjut, biasanya berumur 2-3 hari setelah tempe matang sempurna. Tempe matang sempurna berumur 2x24 jam dari titik inokulasi, tidak bertahan lama serta jarang dijual (Hassanein *et al.*, 2015). Tempe yang terfermentasi lanjut akan menyebabkan komponen-komponen kompleks seperti lemak menjadi asam lemak dan miselium akan berwarna abu-abu atau hitam (Aptesia *et al.*, 2013). Semakin lama waktu fermentasi, maka semakin meningkat pula jenis asam lemak pada pertumbuhan bakteri (Rachmawati *et al.*, 2019). Lamanya waktu fermentasi mempengaruhi kandungan protein di dalam tempe. Kandungan protein pada tempe dengan waktu fermentasi 24 jam sebesar 49,41 g/100 g, sedangkan fermentasi 96 jam sebesar 53,43 g/100 g. Protein pada tempe lebih mudah dicerna dan diabsorpsi di dalam tubuh (Astawan *et al.*, 2020).

Kandungan nutrisi dan komponen bioaktif *overripe tempe* didapat dari khamir, bakteri asam laktat (BAL) dan kapang. Bakteri asam laktat digunakan dalam fermentasi asam laktat pada makanan seperti tahu, tempe dan asinan. Bakteri asam laktat akan membentuk asam laktat yang dapat menimbulkan rasa asam (Virgianti *et al.*, 2017). Selain itu, BAL dapat menghasilkan beberapa senyawa metabolit, seperti hidrogen peroksida, diasetil, asam organik (asam laktat dan asetat) dan bakteriosin (Desniar *et al.*, 2012), karena BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk (Murni *et al.*, 2013). Salah satu contoh bakteri patogen yang sering dijumpai adalah *Escherichia coli*. *E. coli* merupakan salah satu penyebab infeksi, seperti kolangitis, bakteremia, kolesistitis, infeksi saluran kandung kemih dan infeksi lain (Yuliani *et al.*, 2011). *Escherichia coli* juga dapat menyebabkan diare karena menghasilkan enterotoksin (Rosyidi *et al.*, 2008). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek pemberian pakan dengan penambahan *overripe tempeh* terhadap penurunan bakteri *Escherichia coli* dan peningkatan BAL pada feses ayam petelur.

METODE

Ayam petelur diperoleh dari CV. Indah Mustika peternakan ayam petelur Mangunsari, Gunungpati, Semarang. Pemeriksaan bakteri *E. coli* dan BAL dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Unnes.

Perlakuan pada Ayam

Rancangan penelitian ini adalah rancangan acak lengkap satu faktor yaitu variasi penambahan *overripe tempeh* (0%, 7,5%, 15% dan 22,5%). Jenis ayam yang digunakan untuk penelitian ini adalah 28 ekor ayam petelur coklat strain *Hyline* berumur 94 minggu. Ayam dibagi menjadi 4 kelompok (P₀, P₁, P₂ dan P₃), masing-masing kelompok 7 ekor ayam, dengan perlakuan seperti pada Tabel 1. Pakan standar yang digunakan adalah jenis pakan T-24P pakan komplit tepung untuk ayam petelur produksi 2%-afkir. Sebelum ayam percobaan diberi pakan tempe, terlebih dahulu ditimbang untuk mendapatkan rerata berat badan agar pemberian pakan sesuai dengan kebutuhan. Ayam dipelihara dalam kandang sistem sangkar dengan model baterai, 1 kandang berisi 1 ekor ayam petelur dan antara 1 ayam dengan ayam lain terdapat jarak 1 kandang sebagai pemisah. Kandang diberi tali rafia dan label untuk membedakan konsentrasi pakan. Pemeliharaan ayam dilakukan selama 40 hari. Pada hari ke-20 dan ke-40 pemeliharaan, dilakukan penimbangan berat badan dan pengambilan feses untuk mendeteksi jumlah *E. coli* dan BAL.

Tabel 1. Perlakuan Pakan Pada Penelitian

Kelompok	Perhitungan pemberian pakan (g/ekor/hari)	
	Pakan standar	<i>Overripe tempe</i>
P ₀ (<i>Overripe tempe</i> 0%)	130	0
P ₁ (<i>Overripe tempe</i> 7,5%)	120,25	9,75
P ₂ (<i>Overripe tempe</i> 15%)	110,5	19,5
P ₃ (<i>Overripe tempe</i> 22,5%)	100,75	29,25

Pengambilan Sampel Feses

Sampel feses ayam diambil secara langsung di bawah kandang. Sampel dimasukkan ke dalam plastik, setiap satu plastik berisi satu sampel feses yang kemudian dianalisis jumlah bakteri *E. coli* dan BAL di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Semarang. Sampel feses diencerkan terlebih dahulu dengan aquades steril dengan perbandingan 1:9 sebelum ditumbuhkan pada medium EMBA dan MRSA.

Pembuatan Media EMBA dan MRSA

Media EMBA dibuat dengan cara melarutkan 36gram EMBA ke dalam 1Liter aquades, kemudian dipanaskan dan diaduk sampai homogen, disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah tidak panas, media EMBA disimpan di dalam lemari pendingin agar terjaga kesterilannya.

Media MRSA dibuat dengan cara melarutkan 68,2gram MRSA ke dalam 1Liter aquades, kemudian dipanaskan dan diaduk sampai homogen, disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah tidak panas, media MRSA disimpan di dalam lemari pendingin agar terjaga kesterilannya.

Isolasi dan Penghitungan Bakteri *Escherichia coli*

Tahapan pemeriksaan bakteri *E. coli* diawali dengan menuangkan media EMBA pada cawan petri yang sudah steril. Selanjutnya, sampel feses yang sudah diencerkan, diambil sebanyak 1000 µl dan diletakkan di dalam cawan petri dengan menggunakan metode sebar, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, koloni yang tumbuh dan berwarna hijau metalik dengan titik hitam pada bagian tengahnya merupakan koloni *E. coli*. Selanjutnya koloni *E. coli* dihitung menggunakan colony counter.

Isolasi dan Penghitungan Bakteri Asam Laktat (BAL)

Tahapan pemeriksaan BAL diawali dengan menuangkan media MRSA pada cawan petri yang sudah steril. Selanjutnya, sampel feses yang sudah diencerkan, diambil sebanyak 1000 µl dan diletakkan di dalam cawan petri dengan menggunakan metode sebar, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, koloni yang tumbuh berwarna putih, berbentuk bulat dan tidak berserat merupakan koloni BAL. Selanjutnya koloni BAL dihitung menggunakan colony counter.

Analisis data

Data jumlah bakteri *E. coli* dan BAL, masing-masing dianalisis dengan Anova 1 arah, dilanjutkan uji Turkey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian efek pemberian pakan dengan tambahan *overripe tempe* terhadap jumlah total bakteri *Escherichia coli* dan bakteri asam laktat pada feses ayam petelur dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Koloni *Escherichia coli* dan BAL pada Ayam Petelur yang Diberi *Overripe Tempe*

Parameter	Rerata jumlah koloni (x10 ⁷ cfu/mL) (10 ⁷) pada kelompok				Keterangan
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	
<i>Escherichia coli</i> hari ke-20	28,3	15,3	38,7	25,5	S (signifikan)
Bakteri asam laktat (BAL) hari ke-20	38,9	162,1	47,4	95,6	S (signifikan)
<i>Escherichia coli</i> hari ke-40	57,9	28,3	40,9	36,3	S (signifikan)
Bakteri asam laktat (BAL) hari ke-40	70,2	68,1	51,6	60,9	TS (tidak signifikan)

Berdasarkan Tabel 2, jumlah bakteri *Escherichia coli* terendah di hari ke-20 pada perlakuan P₁ sebanyak 15,3x10⁷ cfu/mL dan jumlah bakteri asam laktat tertinggi pada perlakuan P₁ sebanyak

162,1x10⁷ cfu/mL. Sementara pada hari ke-40, jumlah bakteri *Escherichia coli* terendah pada perlakuan P₁ sebanyak 28x10⁷ cfu/mL dan jumlah bakteri asam laktat tertinggi pada perlakuan P₀ sebanyak 70,2 x10⁷ cfu/mL.

Berdasarkan hasil penelitian di atas, penambahan *overripe tempe* 7,5% (P₁) selama 20 hari pada ayam berusia 94 minggu menunjukkan jumlah koloni *E. coli* paling sedikit. Demikian juga, peningkatan BAL hari ke-20 lebih tinggi dibandingkan hari ke-40. Angka penurunan *E. coli* terendah pada hari ke-40 sebanyak 28,3x10⁷ cfu/mL, namun tercatat lebih tinggi dibandingkan dengan hari ke-20. Pemberian *overripe tempe* memiliki hasil paling optimal pada hari ke-20. Sementara pada hari ke-40, penambahan *overripe tempe* menyebabkan penambahan *E. coli* dan penurunan BAL. Pengaruh pemberian *overripe tempe* cenderung dapat maksimal pada ayam yang berusia tidak terlalu tua.

Salah satu faktor yang mempengaruhi hasil tersebut adalah usia dan kondisi kesehatan ayam. Ayam yang digunakan pada hari ke-20 berusia 94 minggu, sedangkan pada hari ke-40 ayam berusia 96 minggu. Berdasarkan usia ayam, hasil yang baik adalah hari ke-20. Selain itu, sistem pengelolaan peternakan akan berpengaruh terhadap mutu produk ternak yang diperoleh seperti daging, susu dan telur. Kondisi di sekeliling peternakan seperti tumbuhan, air, tanah serta keberadaan dan kondisi hewan lain dapat berpengaruh pada mutu dan keamanan hasil ternak yang diperoleh. Adanya cemaran biologi dan bahan kimia pada kondisi sekitar, dapat mempengaruhi hasil ternak yang diperoleh. Kualitas ransum yang diberikan pada hewan ternak berhubungan dengan keamanan pangan asal ternak. Bahan pakan ternak harus jelas bentuk dan asalnya serta disimpan dengan baik (Rafika, 2017). *Overripe tempe* mungkin akan lebih berpengaruh jika digunakan pada ayam usia muda.

Menurut Suwito (2009) *Escherichia coli* yang dikeluarkan dari saluran pencernaan melalui feses mengandung tidak lebih dari 10⁸-10⁹ *E. coli*/gram. Sementara kandungan flora normal BAL pada saluran pencernaan manusia ataupun hewan sampai 10¹² bakteri/gram dan pada kolon sapi didapati BAL 10⁴-10⁹/gram isi kolon (Datta *et al.*, 2019). Jumlah koloni *E. coli* dan BAL dalam penelitian ini dapat dikategorikan masih aman karena tidak melebihi ambang batas yang ditentukan.

Berdasarkan hasil ANOVA satu arah, jumlah total bakteri *Escherichia coli* pada feses ayam petelur fase layer di hari ke-20, secara signifikan (P<0,05) dipengaruhi oleh penambahan *overripe tempe*. Pada uji Tuckey (0,05) menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan tambahan *overripe tempe* dapat digunakan sampai batas 15% (P₂), dimana P₂ menunjukkan hasil tidak berbeda jauh dengan P₁ (penambahan *overripe tempe* 7,5%). Dengan demikian, P₂ berpotensi sama baik dengan P₁ terhadap penurunan jumlah total bakteri *Escherichia coli* pada feses ayam petelur. Pada data jumlah BAL pada feses ayam petelur hari ke-20, hasil ANOVA juga menunjukkan adanya pengaruh signifikan (P<0,05) dari penambahan *overripe tempe*. Pada uji Tuckey (0,05) menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan tambahan *overripe tempe* dapat digunakan sampai batas 22,5% (P₃), dimana P₃ menunjukkan hasil tidak berbeda jauh dengan P₀, P₁ dan P₃. Dengan demikian, P₀ dan P₁ memiliki potensi yang sama baik dengan P₃ terhadap peningkatan jumlah BAL pada feses ayam petelur.

Berdasarkan hasil ANOVA satu arah, jumlah total bakteri *Escherichia coli* pada feses ayam petelur fase layer di hari ke-40, secara signifikan (P<0,05) dipengaruhi oleh penambahan *overripe tempe*. Pada uji Tuckey (0,05) menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan tambahan *overripe tempe* dapat digunakan sampai batas 7,5% (P₁), dimana P₁ menunjukkan hasil tidak berbeda jauh dengan P₀. Dengan demikian, P₁ memiliki potensi yang sama baik dengan P₀ terhadap penurunan jumlah total bakteri *Escherichia coli* pada feses ayam petelur. Sementara pada data jumlah BAL pada feses ayam petelur hari ke-40, hasil ANOVA menunjukkan tidak ada pengaruh signifikan (P<0,05) dari penambahan *overripe tempe*.

Pemberian *overripe tempe* pada penelitian ini berpengaruh terhadap penurunan *E. coli* hari ke-20 dan ke-40 serta berpengaruh terhadap peningkatan BAL hari ke-20, namun tidak berpengaruh pada hari ke-40. Penurunan jumlah *Escherichia coli* hari ke-20 dan ke-40 paling baik pada penambahan *overripe tempe* 7,5%. Hasil rata-rata BAL tertinggi pada P₀ (tanpa pemberian *overripe tempe*). Hal ini yang menyebabkan uji Anova tidak signifikan dan tidak dapat dilakukan uji lanjut Tuckey 5%. Peningkatan jumlah BAL hari ke-20 dan penurunan *E. coli* hari ke-20 dan ke-40 dipengaruhi juga dengan sisa pakan dan berat badan ayam petelur. Sisa pakan yang paling sedikit pada pemberian *overripe tempe* konsentrasi 7,5%. Semakin tinggi konsentrasi *overripe tempe*, sisa pakan semakin banyak. Hal ini menjadi salah satu penyebab konsentrasi *overripe tempe* paling baik adalah 7,5%. Menurut Koni *et al.* (2013) untuk meningkatkan peranan dari biji asam perlu adanya fermentasi dengan kapang *Rhizopus oligosporus* dan hasil biji asam fermentasi dapat digunakan sampai 22,5% pada pakan ayam broiler dan tidak adanya pengaruh negatif pada konversi pakan, konsumsi pakan dan pertambahan berat badan.

Bakteri *E. coli* dapat ditemukan pada feces kambing, domba, kucing, anjing, ayam dan babi (Rosyidi *et al.*, 2008). Pada penelitian ini, ayam P₀ (tanpa pemberian *overripe tempe*), P₁ (pemberian *overripe tempe* 7,5%), P₂ (pemberian *overripe tempe* 15%) dan P₃ (pemberian *overripe tempe* 22,5%) terdapat bakteri *E. coli*. *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri yang sering menginfeksi hewan (Yuliani *et al.*, 2011). Bakteri ini sebagian besar berada dalam saluran pencernaan hewan dan manusia. Biasanya *Escherichia coli* tidak berbahaya dan menguntungkan untuk manusia, karena dapat mengurangi tumbuhnya bakteri berbahaya yang ada di saluran pencernaan melalui persaingan oksigen dan nutrisi (Juwita *et al.*, 2014). Bakteri ini seringkali dikaitkan sebagai infeksi sekunder yang memperburuk kondisi inang akibat infeksi primer oleh agen penyakit lain. Bakteri menjadi resisten terhadap agen antibakteria karena adanya mutasi, transformasi, transduksi ataupun konjugasi (Wibowo *et al.*, 2011). Bakteri asam laktat pada perlakuan kontrol juga ditemukan di dalam feces. Menurut Mujnisa *et al.* (2013) BAL terdapat dalam feces ayam broiler. Selain itu, BAL juga terdapat pada feces rusa sambar (Joni *et al.*, 2018). Penelitian Pisol *et al.* (2013) berhasil mengisolasi BAL dari tempe, tidak hanya pada produk tempe namun juga pada tahapan masing-masing pembuatan tempe.

Penurunan *E. coli* dikarenakan pada BAL terkandung probiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti *E. coli*. Bakteri asam laktat yang dapat menekan *Escherichia coli* pada penelitian ini terdapat pada *overripe tempe*. *Overripe tempe* dapat menekan *E. coli* yang memungkinkan BAL dapat tumbuh, namun BAL pada *overripe tempe* tidak meningkat, kemungkinan karena BAL tersebut tidak memproduksi (tetap ada BAL namun jumlahnya tidak bertambah) sehingga ketika diuji menggunakan ANOVA satu arah ($P \geq 0,05$) *overripe tempe* tidak memiliki pengaruh dan tidak dapat diuji lanjut menggunakan Tuckey 5%. Hal ini karena adanya faktor PH, salinitas dan suhu. Menurut Subagiyo *et al.* (2015) kondisi yang baik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat dapat berbeda dengan kondisi baik untuk produksi bakteri asam laktat. Selain itu, usia ayam petelur yang digunakan dalam perlakuan dapat mempengaruhi jumlah BAL yang dihasilkan.

Kandungan nutrisi dan komponen bioaktif *overripe tempe* didapatkan dari bakteri asam laktat dan kapang *Rhizopus oligosporus*. Bakteri asam laktat digunakan dalam fermentasi asam laktat pada makanan seperti tahu, tempe dan asinan (Virgianti, 2017). Selain itu, pada *overripe tempe* terdapat senyawa isoflavin. Jenis senyawa isoflavin pada *overripe tempe* ada empat, salah satunya adalah isoflavin aglikon terutama genistein (Fawwaz *et al.*, 2017). Salah satu bagian genistein adalah fitoestrogen. Fitoestrogen adalah senyawa bioaktif bersifat estrogenik yang mempunyai aktivitas sama dengan hormon estrogen pada mamalia. Pada hewan, fitoestrogen mampu meningkatkan performa reproduksi dan fertilitas gamet. Selain itu, isoflavin daidzein, genistein juga memiliki khasiat sebagai estrogenik, anti-tumor atau anti kanker, anti inflamasi, anti penyempitan pembuluh darah, anti-hemolisis, anti kolesterol, menurunkan kadar trigliserida VLDL (*very low density lipoprotein*) dan LDL (*low density lipoprotein*).

Perubahan polifenol dan sifat antioksidan tergantung pada waktu fermentasi dan jenis kapang. Kandungan polifenol dipengaruhi oleh perbedaan kelompok senyawa seperti antosionin dan tanin. Kelompok senyawa tersebut berkontribusi pada aktivitas antioksidan secara keseluruhan. Aktivitas antioksidan tertinggi dan kandungan total polifenol dilihat dari varietas kedelai hitam dan coklat. Sebagian besar polifenol terpusat pada kulit kedelai. Isoflavin daidzein, genistein dan glikosida berperan utama pada fitoestrogen. Sementara lignin, biochanin, glycitein, formonentin memiliki konsentrasi lebih rendah (Kuligowski *et al.*, 2017).

Bakteri asam laktat juga memproduksi antibakteri berupa asam organik, bakteriosin, hidrogen peroksida, metabolit primer, CO₂, diasetil dan asetaldehid. Sebagian flora normal di dalam saluran pencernaan hewan adalah bakteri asam laktat. Selain itu, terdapat isolat BAL yang mempunyai kemampuan menghasilkan bakteriosin yaitu isolat 18A yang telah diidentifikasi secara molekuler sebagai *Enterococcus durans*. Isolat ini didapati adanya antibakteri terhadap bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *E. coli* dan bakteri lain pada uji katalase (Suardana *et al.*, 2016). Pada saluran pencernaan, bakteri asam laktat berkaitan dengan keseimbangan flora normal di dalamnya. Jumlah bakteri asam laktat dan bakteri patogen yang tidak seimbang akan berpengaruh pada saluran pencernaan (Datta *et al.*, 2019).

Bakteri asam laktat juga dapat memproduksi zat antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Asam organik pada bahan pangan berfungsi sebagai pengawet, sedangkan garam sebagai antimikroba yang efektif pada pH yang mendekati netral. Asam laktat merupakan hasil utama metabolit BAL yang mengakibatkan perubahan pH secara signifikan. Adanya asam organik dan asam laktat pada BAL dapat mengakibatkan pH turun dan menyebabkan

terhambatnya pertumbuhan mikroba yang tidak tahan pada kondisi pH relatif rendah (Salminen *et al.*, 2014).

Suatu penelitian menunjukkan bahwa tikus Sprague Dawley yang mengonsumsi tempe dapat meningkatkan populasi Bacteroidetes. Hal ini menandakan bahwa tempe dapat mengurangi komposisi mikroba yang ada di dalam usus. Pada kultur *in vitro*, ekstrak tempe dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*, namun dapat merangsang pertumbuhan mikroba normal di dalam usus yaitu Bifidobacterium dan Lactobacillus. Pertumbuhan *Bacillus cereus* dan sporanya dapat ditunda dengan mengonsumsi ekstrak tempe mentah dan juga dapat menunda pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* (Virgianti, 2017).

Bakteri asam laktat dapat berfungsi sebagai probiotik dengan beberapa syarat yaitu tidak berbahaya, mempunyai daya hidup yang tinggi, tumbuh dan aktif pada sistem pencernaan, tahan terhadap asam dan garam empedu serta dapat mencegah dan membunuh bakteri patogen (Joni *et al.*, 2018). Beberapa faktor dapat mempengaruhi pertumbuhan dan ketahanan hidup bakteri pada usus dalam menentukan strain BAL yang berpotensi sebagai probiotik. Tekanan bakteri probiotik dimulai dari lambung, dimana bakteri ini mampu bertahan pada pH yang sangat rendah. Bakteri mulai masuk sampai keluar lambung membutuhkan waktu 90 menit. Setelah masuk ke lambung, bakteri akan memasuki saluran usus bagian atas yang merupakan tempat sekresi garam empedu. BAL dengan jalur yang sama dan diisolasi dari sumber yang sama, memiliki keragaman pada daya tahan terhadap garam empedu (Mujnisa *et al.*, 2013).

Probiotik mempunyai beberapa manfaat bagi tubuh. Pertama, mencegah terjadinya kanker dengan menghilangkan bahan yang bersifat karsinogen dari tubuh dan sistem kekebalan tubuh diaktifkan. Kedua, bahan aktif anti-tumor dapat diproduksi. Ketiga, menghasilkan berbagai vitamin B1, B2, B6, B12 dan asam folat yang mudah diterima oleh tubuh. Keempat, dapat mengurangi jumlah bakteri *E. coli* dan *Clostridium perfringens* penyebab radang usus serta mengurangi bakteri patogen lainnya karena di dalam usus menghasilkan asam laktat dan asam asetat. Kelima, berperan dalam mengurangi kadar kolesterol, dimana niasin memberikan peranan dalam mengurangi kadar kolesterol yang dihasilkan oleh Bifidobakteria (Murni *et al.*, 2013). Penggunaan probiotik sampai 3% memberikan keuntungan terhadap nilai ekonomi dengan menurunnya nilai konversi pakan (Priastoto *et al.*, 2017). *Overripe tempe* pada penelitian ini sebagai produk yang dapat dimanfaatkan sebagai tambahan pakan ternak, mengurangi biaya pakan dan sebagai substitusi pakan pada ayam petelur.

SIMPULAN

Penambahan *overripe tempe* pada pakan ayam petelur fase layer berpengaruh terhadap penurunan jumlah total bakteri *E. coli* dan peningkatan jumlah total BAL hari ke-20. Penambahan *overripe tempe* yang baik yaitu 7,5%. Penambahan *overripe tempe* pada ayam petelur fase layer hari ke-40 dengan konsentrasi 7,5% tidak berpengaruh terhadap peningkatan BAL. Penambahan *overripe tempe* pada pakan standar lebih efektif diberikan sampai awal fase layer.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeny, A. M. S., Husinsyah, & Syarifah, M. (2011). Analisis rentabilitas usaha pembuatan tempe di Kelurahan Sidodadi Kota Samarinda. *Jurnal Ekonomi Pertanian dan Pembangunan*, 8(2), 1-4.
- Aptesia, L. T., & Al Rasyid, H. (2013). Pemanfaatan *Lactobacillus casei* dan tapioka dalam upaya menghambat kerusakan tempe kedelai. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, 18(2), 175-184.
- Astawan, M. (2020). Pengaruh germinasi kedelai terhadap komposisi proksimat dan komponen bioaktif isoflavon tempe segar dan semangit. *Jurnal Pangan*, 29(1), 35-44.
- Datta, F. U., Daki, A. N., Benu, I., Detha, A. I. R., Foeh, N. D., & Ndaong, N. A. (2019). Uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat cairan rumen terhadap pertumbuhan *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumur agar. *Jurnal Kajian Veteriner*, 66-85.
- Desniar, Rusmana, I., Suwanto, A., & Mubarik, N. R. (2012). Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat asal bekasam. *Jurnal Akuatika*, 3(2), 135-145.
- Fawwaz, M., Natalisnawati, A., & Baits, M. (2017). Kadar isoflavon aglikon pada ekstrak susu kedelai dan tempe. *Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*, 6(3), 152-158.

- Hassanein, T. R., Prabawati, E. K., & Gunawan-Puteri, M. D. P. T. (2015). Analysis of chemical and microbial change during storage of overripe tempeh powder as seasoning material. *International Journal of Science and Engineering*, 8(2), 131-134.
- Joni, L. S., Erina, E., & Abrar, M. (2018). Total bakteri asam laktat (BAL) pada feses rusa sambar (*Cervus unicolor*) di Taman Rusa Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 2(2), 77-85.
- Juwita, U., Haryani, Y., & Jose, C. (2014). Jumlah bakteri Coliform dan deteksi *Escherichia coli* pada daging ayam di Pekan Baru. *JOM FMIPA*. 1(2): 48-55
- Koni, T. N. I., Paga, A., & Jehemat, A. (2013). Performa produksi broiler yang diberi ransum mengandung biji asam hasil fermentasi dengan ragi tempe (*Rhizopus oligosporus*). *Jurnal Ilmu Ternak*, 13(1),13-16
- Kuligowski, M., Pawłowska, K., Jasińska-Kuligowska, I., & Nowak, J. (2017). Isoflavone composition, polyphenols content and antioxidative activity of soybean seeds during tempeh fermentation. *CyTA-Journal of Food*, 15(1), 27-33.
- Mujnisa, A., Rotib, L. A., Djide, N., & Natsir, A. (2013). Ketahanan bakteri asam laktat hasil isolasi dari feses broiler terhadap kondisi saluran pencernaan broiler. *JITP*, 2(3), 152-158
- Murni, I.W., Reftiana, E.Z., Puji, A., Harti, A. S., Estuningsih, E., & Kusumawati, H. N. (2013). Pemanfaatan bakteri asam laktat dalam proses pembuatan tahu dan tempe untuk peningkatan kadar isoflavan, asam linoleat dan asam linolenat. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 4(2), 89-95
- Pisol, B., Lilis, N., Noriham, A., Suliantari, & Khalilah, A.K. (2013). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Indonesian soybean tempe. 4th International Conference on Biology, Environment and Chemistry. IACSIT Press, Singapore, 58 (7), 32-36
- Priastoto, D., & Kurtini, T., & Sumardi. (2017). Pengaruh pemberian probiotik terhadap performa ayam petelur. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 15(3), 214-219.
- Rachmawati, M. H., Soetjipto, H., & Kristijanto, A. I. A. I. (2019). Jenis asam lemak minyak tempe busuk. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, 13(1), 82-87.
- Rafika, N. (2017). Tingkat cemaran bakteri *Escheichia coli* pada daging ayam yang dijual di pasar tradisional Makassar. (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar).
- Rosyidi, A. (2008). Deteksi *Escherichia coli* sumber ayam kampung dan resistensinya terhadap berbagai antibiotik. *Jurnal Ilmu Peternakan*, 3(1), 17-22.
- Salminen, M. K., Rautelin, H., Tynkkynen, S., Poussa, T., Saxelin, M., Valtonen, V., & Järvinen, A. (2014). *Lactobacillus bacteremia*, clinical significance, and patient outcome, with special focus on probiotic *L. rhamnosus* GG. *Clinical infectious diseases*, 38(1), 62-69.
- Suardana, I.W., Cahyani, A.P., & Pinatih, K.J.P. (2016). Probiotic potency and molecular identification of lactic acid bacteria isolated from Bali cattle's colon, Indonesia. *Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical*, 5(5), 143-149.
- Subagiyo, S., Margino, S., Triyanto, T., & Setyati, W. A. A. (2015). Effects of pH, temperature and salinity in growth and organic acid production of lactic acid bacteria isolated from penaeid shrimp intestine. *Indonesian Journal of Marine Sciences*, 20(4), 187-194
- Suwito, W. (2009). Dampak verotoksigenik dan enterohemoragik *Escherichia coli* (VTEC dan EHEC) pada hewan, manusia dan makanan. *Wartazoa*, 19(2), 57.
- Virgianti, D. P. (2017). Uji antagonis jamur tempe (*Rhizopus sp*) terhadap bakteri patogen enterik. *Scientific Journal*, 32(3), 162-168.
- Wibowo, M. H., Nugroho, W. S., & Asmara, W. (2011). Profil plasmid *Escherichia coli* resisten terhadap beberapa antibiotika yang diisolasi dari peternakan ayam komersial. *Jurnal Sain Veteriner*, 29(1), 43-50
- Widodo, S. R., & Santoso, H. B. (2020). Analisis kelayakan awal produk olahan kedelai. *Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*, 9(2), 128-133
- Winanti, R., Bintari, S. H., & Mustikaningtyas, D. (2014). Studi observasi higienitas produk tempe berdasarkan perbedaan metode inokulasi. *Life Science*, 3(1), 39-46
- Yuliani, R., Indrayudha, P., & Rahmi, S. S. (2011). Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacon, Jurnal Farmasi Indonesia*,12(2), 50-54