

I. PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Sumatera Barat adalah daerah yang mempunyai sejumlah besar produk pangan fermentasi salah satu diantaranya adalah ikan fermentasi yang disebut *budu*. Ikan fermentasi dilakukan secara tradisional oleh masyarakat pesisir yaitu di daerah Sungai Limau Kab. Padang Pariaman dan Air bangis Kab. Pasaman, Kedua produk *budu* ini mempunyai rasa dan aroma yang khas yang dihasilkan selama fermentasi yang belum diketahui mikroba apa saja yang berperan dalam menghasilkan aroma dan rasa tersebut, dan zat gizi apa saja yang di metabolisme oleh mikroba tersebut belum ada yang melaporkan. Maslami *et al.* (2019) menemukan bakteri asam laktat yang diisolasi dari *budu* dan dapat menghasilkan asam glutamat yang dapat memperbaiki kualitas karkas broiler dengan peningkatan warna dan aroma daging broiler. Anggraini *et al.* (2019) menambahkan bahwa bakteri asam laktat asal *budu* dapat menghasilkan gamma amino asam butirrat (Gaba) yang dapat menurunkan efek stres pada broiler dengan kepadatan kandang yang tinggi.

Dengan keistimewaan *budu* yang dapat menghasilkan aroma dan rasa yang khas perlu dicari metode yang tepat dalam mengeksplorasi produk tersebut, karena melalui metode pengkulturan secara konvensional belum bisa menemukan semua mikroba yang berperan, salah satu metode teranggih pada saat ini adalah menggunakan metode metagenomik. Beberapa faktor penghambat yang menyebabkan sebagian besar mikroba tidak dapat dikultur secara konvensional adalah kondisi suhu yang kurang sesuai, keterbatasan nutrisi, akumulasi produk metabolisme yang bersifat racun, dan faktor penghambat lain yang mengakibatkan metode kultur sulit dilakukan untuk mengetahui keseluruhan komunitas mikroba dalam suatu habitat tertentu.

Satu-satunya teknik untuk mengetahui keanekaragaman mikroba yang tidak dapat dikultur (unculturable) yaitu dengan menggunakan teknik metagenom. Metagenom merupakan suatu teknik yang secara khusus ditujukan untuk mengumpulkan gen-gen secara langsung dari suatu lingkungan, diikuti dengan menganalisis informasi genetika yang terkandung di dalamnya. Teknik

metagenom memungkinkan ekstraksi DNA secara langsung dari lingkungan untuk dianalisis keanekaragaman spesies maupun fungsinya (Streit & Schmitz, 2004). Keunggulan dari teknik tersebut adalah materi DNA mikroba yang terdapat di lingkungan dapat langsung diekstraksi tanpa melalui proses penumbuhan pada medium buatan terlebih dahulu.

Menggunakan metode analisis *metagenomics*, suatu organisme atau kelompok mikroba secara detail dan akurat dapat diketahui fungsi dan peranannya terhadap ternak. Teknik *metagenomics* ini berkembang sebagai solusi atas kelemahan dalam menganalisis mikroba *unculturable* (tidak bisa dikulturkan) dari suatu ekosistem yang tidak mampu tumbuh dalam media tumbuh artifisial (buatan). Pada dasarnya analisis metagenomics merupakan pengembangan teknik molekuler konvensional dalam identifikasi mikroba tertentu. Perbedaan yang mendasar adalah pada cakupan pembacaan sekuens DNA sebagai informasi genetik dapat secara lebih lengkap, detail dan akurat. Oleh karenanya *metagenomics* dapat dikatakan sebagai teknologi sekuens terkini (*next generation sequencing, NGS*). Misalnya, pada mikroba yang memiliki gen *16s* DNA (ukuran DNA yang umum ditemukan di bakteri) akan mampu terbaca secara akurat dan lengkap dengan teknologi NGS ini. Tidak hanya sekadar profil urutan DNA mikroorganisme, aktivitas fungsionalnya dalam proses metabolisme zat makanan dalam tubuh ternak dapat diprediksi dengan akurat. Dengan kata lain, hasil sekuens tidak lagi bersifat parsial namun berupa data lengkap yang memberikan gambaran tentang komposisi mikroorganisme.

Aplikasi metagenomic untuk makanan fermentasi dapat kita lihat pada masin (saus fermentasi) dari Sumbawa, Nusa Tenggara Barat dapat menganalisis metagenom dan keanekaragaman hayati BAL pada masin melalui analisis akan ditemukan keanekaragaman bakteri potensial dan patogen pada masin. Dengan begitu produsen masin akan mampu mengembangkan produk yang lebih baik (Manguntungi *et al.*, 2019). Suruno *et al.* (2018) menemukan komposisi mikrobiota pada dadih dari susu kerbau mentah fermentasi dengan cara DNA diekstraksi dari setiap sampel dalam duplikat dan komposisi mikrobiota ditentukan dengan sekuensing amplicon gen 16S-rRNA dari wilayah V3-V4. Berhe (2019) menyatakan profil metagenomic *Dhanaan* (susu unta fermentasi)

ditemukan spesies BAL seperti *Streptococcus*, *Lactococcus* and *Weissella* serta mikroorganisme tidak aman seperti *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* dan *Clostridium*. (Salazar *et al.*, 2020) melaporkan bahwa secara kolektif menemukan mikrobiota yang bersosiasi dengan keju Gouda dan bagaimana mikrobioma berperan dalam keamanan dan kualitas keju dan Marlinda (2020) Menemukan *Lactobacillus plantarum* dari dadih dan *Pediococcus Acidilactii* dari tempoyak mempunyai kemampuan probiotik pada broiler belum mampu memperbaiki warna dan aroma daging broiler dan dapat memperbaiki performa (metode kultur biasa) belum metagenomik

Pada saat ini kebutuhan protein hewani dari daging broiler bagi masyarakat tidak sekedar pemenuhan kebutuhan terutama bagi masyarakat menengah keatas, dimana kualitas daging berupa kandungan kolesterol, aroma amis, warna yang pucat, daya mengikat air yang tinggi dan sejumlah sifat fisik dan kimia lainnya, dimana semua kriteria tersebut diatas masih menjadi kendala pada daging broiler untuk itu perlu dicari solusi dengan mengaplikasikan probiotik campuran (Probiotik konsorsium) hasil metagenomik dari mikroba yang di peroleh dari *budu*.

Selama dekade terakhir, penelitian berbeda telah dicoba untuk menemukan nutrisi berbasis pendekatan kesehatan dan aditif pakan alami untuk meningkatkan kinerja dan kekebalan unggas, dan sekelompok peneliti merekomendasikan penggunaan probiotik, prebiotik, aditif fitogenik atau asam organik (Abudabos *et al.* 2017; Darabighane dan Nahashon 2014; Hajiaghapour dan Rezaeipour, 2018; Hossain *et al.*, 2012; Selim *et al.*, 2018; Zhang *et al.* 2015). Diantaranya suplemen pakan, probiotik menarik banyak perhatian, disamping pengganti antibiotik diharapkan mampu mengurangi kelemahan daging broiler. FAO / WHO (2001) menjelaskan probiotik sebagai 'mikroorganisme hidup yang, bila diberikan dalam jumlah yang cukup, memberikan manfaat kesehatan pada ternak. Probiotik adalah kultur mikroba hidup, seperti bakteri, ragi, dan jamur, yang mempengaruhi kesehatan dan gizi ternak melalui perbaikan keseimbangan mikroba ususnya (Khan *et al.* 2011; Yang *et al.* 2009; Zarei *et al.*, 2018; Zhang dan Kim, 2014).

Meningkatnya kesadaran tentang makanan sehat telah menyebabkannya meningkatnya minat pada produk makanan alami dan nutraceuticals seperti

probiotik. Mikroorganisme probiotik telah menunjukkan banyak efek menguntungkan bagi kesehatan melalui uji coba in-vivo, disertai dengan banyak potensi baru yang menjanjikan seperti yang dikembangkan oleh percobaan in-vitro (Ewe *et al.*, 2010; Liong dan Shah, 2005). Ada sejumlah penelitian melaporkan bahwa suplementasi probiotik dapat meningkatkan kualitas daging broiler. Kandungan lemak intramuskular berperan dalam menentukan kualitas daging terutama nutrisi, kelembutan, bau, rasa dan karakteristik rasa. Endo dan Nakano (1999) melaporkan kecenderungan yang lebih besar dari rasio asam lemak tak jenuh yang lebih tinggi terhadap asam lemak jenuh dalam daging dada dan paha ayam pedaging yang diberi pakan probiotik yang mengandung *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Saccharomyces* dan *Candida*. Hasilnya menunjukkan bahwa lemak dalam daging diubah menjadi lemak yang disukai, yang pada gilirannya berkontribusi pada daging yang lebih halus teksturnya.

Dalam pakan broiler, komposisi asam lemak termodulasi di dada daging ayam broiler dengan meningkatkan konsentrasi asam lemak omega-3 terutama asam eicosapentaenoic (EPA) dan asam docosaheptaenoic (DHA) sedangkan kandungan asam lemak omega-3 dalam daging broiler kontrol tetap relatif rendah. Penilaian sensoris pada bakso ayam dilakukan oleh Mahajan dkk. (2000) mengungkapkan bahwa skor organoleptik secara keseluruhan dalam hal penampilan, tekstur, juiciness dan penerimaan keseluruhan lebih tinggi pada pakan yang di suplementasi dengan probiotik *Lactobacillus* pada ayam pedaging dibandingkan yang diberi pakan basal tradisional.

Evaluasi pengaruh probiotik terhadap warna kulit ayam broiler menjelaskan bahwa probiotik *Lactobacillus salivarius* bisa meningkatkan akumulasi xantofil dalam jaringan, sehingga meningkatkan penampilan visual produk daging (Zhu *et al.*, 2009). Daging ayam pedaging diberi probiotik campuran *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Aspergillus oryzae*, *Streptococcus faecium* dan *Torulopsis* sp menunjukkan kandungan protein dan abu yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (Khaksefidi dan Rahimi, 2005). Ditambahkan bahwa ayam yang diberi probiotik memiliki retensi mineral yang lebih baik terutama fosfor, kalsium dan nitrogen serta rasio efisiensi protein. Rasio efisiensi protein yang lebih tinggi

selanjutnya dapat membantu meningkatkan hasil daging seperti yang diamati oleh Hossain *et al.* (2012) di mana penambahan probiotik dapat meningkatkan berat relatif absolut daging dada.

Pemberian probiotik secara bersama sama, dua atau lebih jenis mikroba disebut juga dengan probiotik konsorsium. Sekelompok penelitian melaporkan probiotik yang digunakan dalam nutrisi ternak mencakup kelompok yang berbeda, seperti bakteri (*Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp., dan *Bacillus* spp.), ragi (*Saccharomyces cerevisiae*), dan jamur (*Aspergillus awamori*) (Forte *et al.*, 2016; Hossain *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2011; Saleh *et al.*, 2013; Yalçın *et al.*, 2010; Zarei *et al.*, 2018; Zhang *et al.* 2005; Zhang dan Kim, 2014). Saat ini sudah berkembang minat para industri pakan untuk menyiapkan pakan suplemen probiotik mengandung kombinasi strain mikroba yang bermanfaat untuk mendapatkan interaksi yang sinergis terhadap kinerja pertumbuhan yang lebih baik, status kesehatan, dan kualitas produk unggas. Hussein dan Selim (2018) melaporkan penggunaan empat mikroorganisme, yang bervariasi dalam biologi dan metabolisme, yaitu *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus oryzae* (probiotik konsorsium), dan *Saccharomyces cerevisiae* yang diberikan pada ayam broiler untuk melihat pengaruh probiotik multi-strain vs. ragi dan efeknya sendiri atau dalam kombinasi terhadap kinerja pertumbuhan, sifat fisik dan kimia karkas, komposisi kimia darah, profil asam lemak, dan kapasitas antioksidan daging. Memberikan hasil secara keseluruhan, menunjukkan bahwa probiotik pemberian kombinasi ragi dan probiotik konsorsium dalam pakan ayam broiler meningkatkan kinerja pertumbuhan dan kualitas karkas, lemak kasar yang lebih rendah, protein kasar yang lebih besar, dan stabilitas oksidatif yang lebih baik pada daging dada dibandingkan perlakuan kontrol. Selanjutnya suplementasi kombinasi ragi dan koktail probiotik dalam diet basal bermanfaat memodulasi profil asam lemak daging dada, khususnya PUFA, rasio PUFA / SFA, total asam lemak n-3, dan rasio n-6 / n-3. serta penurunan kolesterol total serum dan konsentrasi lipid total. Berdasarkan uraian diatas maka perlu solusi melalui serangkaian penelitian yang dimulai dari analisis metagenom mikroba asal *budu* untuk mengetahui keanekaragaman spesies mikroba secara detail dan akurat dapat

diketahui fungsi dan peranannya, selanjutnya mikroba terpilih akan dijadikan sumber Probiotik Konsorsium dan diaplikasikan pada broiler untuk mengetahui performa, kualitas karkas, fisik, kimia dan uji organoleptik (aroma, rasa, tekstur, warna).

1.2. PERUMUSAN MASALAH

Rumusan masalah yang terdapat pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimanakah keanekaragaman bakteri yang terdapat pada budu baik yang berasal dari Sungai Limau Kab. Padang Pariaman maupun Air bangis, Kab. Pasaman menggunakan teknik metagenomik.
2. Bagaimana kemampuan isolat bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari ikan budu Sungai Limau Kab. Padang Pariaman sebagai kandidat probiotik
3. Berapa ratio dan medium alami sebagai media tumbuh probiotik konsorsium
4. Berapa dosis pemberian probiotik konsorsium terbaik terhadap performa, kualitas karkas (fisik, kimia, kandungan asam lemak jenuh dan tak jenuh), uji organoleptik (rasa, warna, aroma, tekstur) broiler

1.3. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mendapatkan keanekaragaman bakteri yang terdapat pada budu baik yang berasal dari Sungai Limau Kab. Padang Pariaman maupun Air bangis, Kab. Pasaman menggunakan teknik metagenomik.
2. Mendapatkan kandidat probiotik yang dapat diaplikasikan pada broiler
3. Mendapatkan ratio dan media alami terbaik dalam meningkatkan pertumbuhan probiotik konsorsium
4. Mendapatkan dosis pemberian probiotik konsorsium yang dapat meningkatkan performa, kualitas karkas (fisik, kimia, kandungan asam lemak jenuh dan tak jenuh), uji organoleptik (tekstur, rasa, warna, aroma) broiler

1.4. HIPOTESIS PENELITIAN

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Terdapat keanekaragaman bakteri yang terdapat pada budu baik yang berasal dari Sungai Limau Kab. Padang Pariaman maupun Air bangis, Kab. Pasaman menggunakan teknik metagenomik.
2. Terdapat bakteri asam laktat yang mempunyai kemampuan probiotik untuk broiler
3. Adanya interaksi antara ratio probiotik dan medium alternatif alami terhadap peneningkatan pertumbuhan probiotik konsorsium
4. Pemberian probiotik konsorsium 1.5 ml/100 ml dalam air minum memberikan pengaruh terbaik terhadap performa, kualitas karkas (fisik, kimia, kandungan asam lemak jenuh dan tak jenuh), uji organoleptik (tekstur, rasa, warna, aroma).

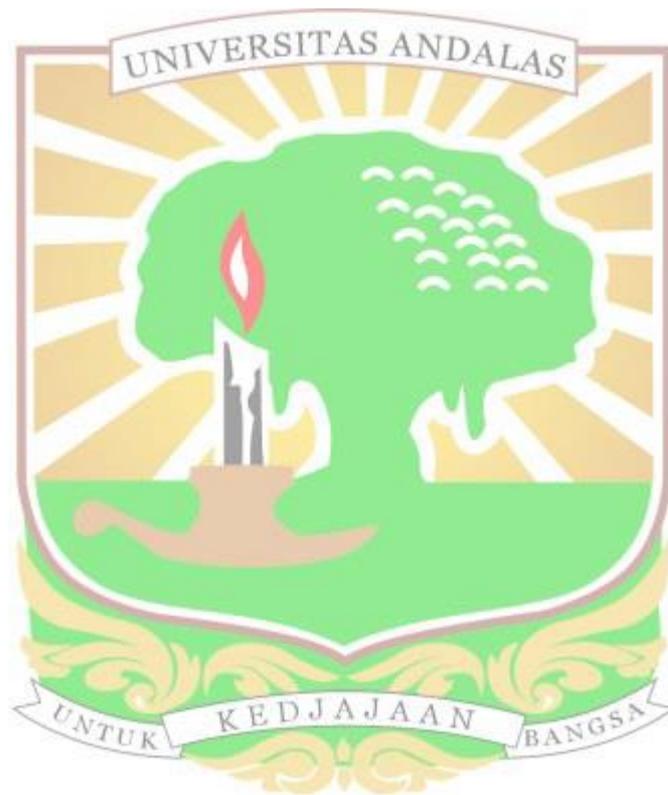
1.5. MAANFAAT PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain, sebagai berikut :

1. Pemanfaatan probiotik lokal dari ikan budu terfermentasi yang ketersediaannya cukup banyak di propinsi Sumatra Barat.
2. Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai data dasar untuk menunjang penelitian lain dan memberikan masukan bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.
3. Menjadi dasar untuk pengambilan kebijakan bagi perusahaan peternakan broiler di perusahaan sehingga dapat menerapkan tambahan pakan probiotik bagi broiler agar kualitas daging yang dijual semakin meningkat.
4. Pemerintah dapat mengembangkan dan melakukan penyuluhan kepada para peternak untuk meningkatkan pengetahuan bagi peternak sehingga peternak dapat menghasilkan produk yang lebih unggul dan berkualitas.

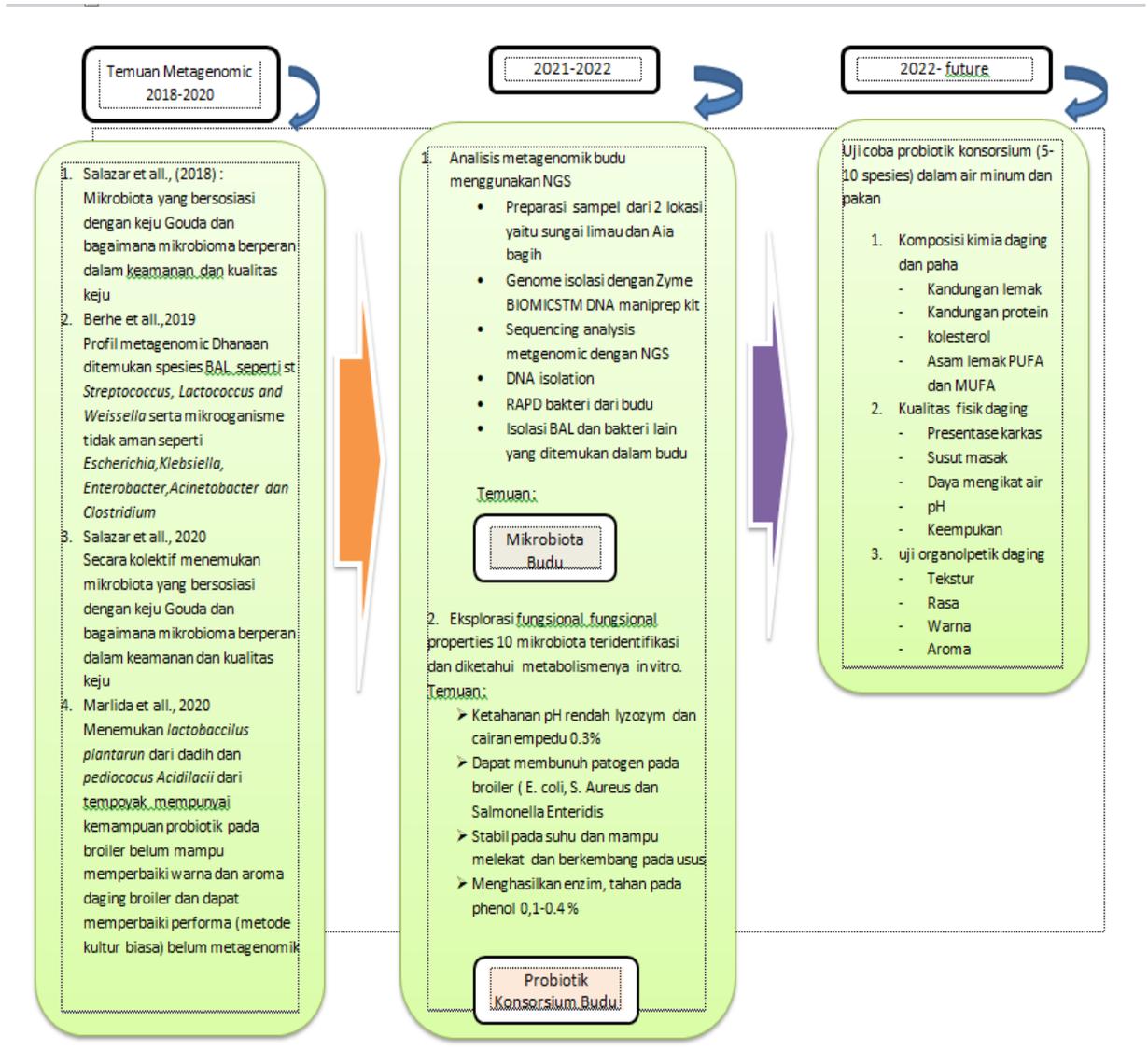
1.6. NOVELTY (KEBAHARUAN) PENELITIAN

1. Jumlah spesies bakteri dipariaman lebih banyak dibandingkan Pasaman
2. Didapatkan lima spesies bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari budu pariaman sebagai probiotik konsorsium
3. Ditemukannya media alami pengganti media sintetik untuk pertumbuhan probiotik konsorsium
4. Ditemukan dosis terbaik probiotik konsorsium yang dapat diaplikasikan ke broiler

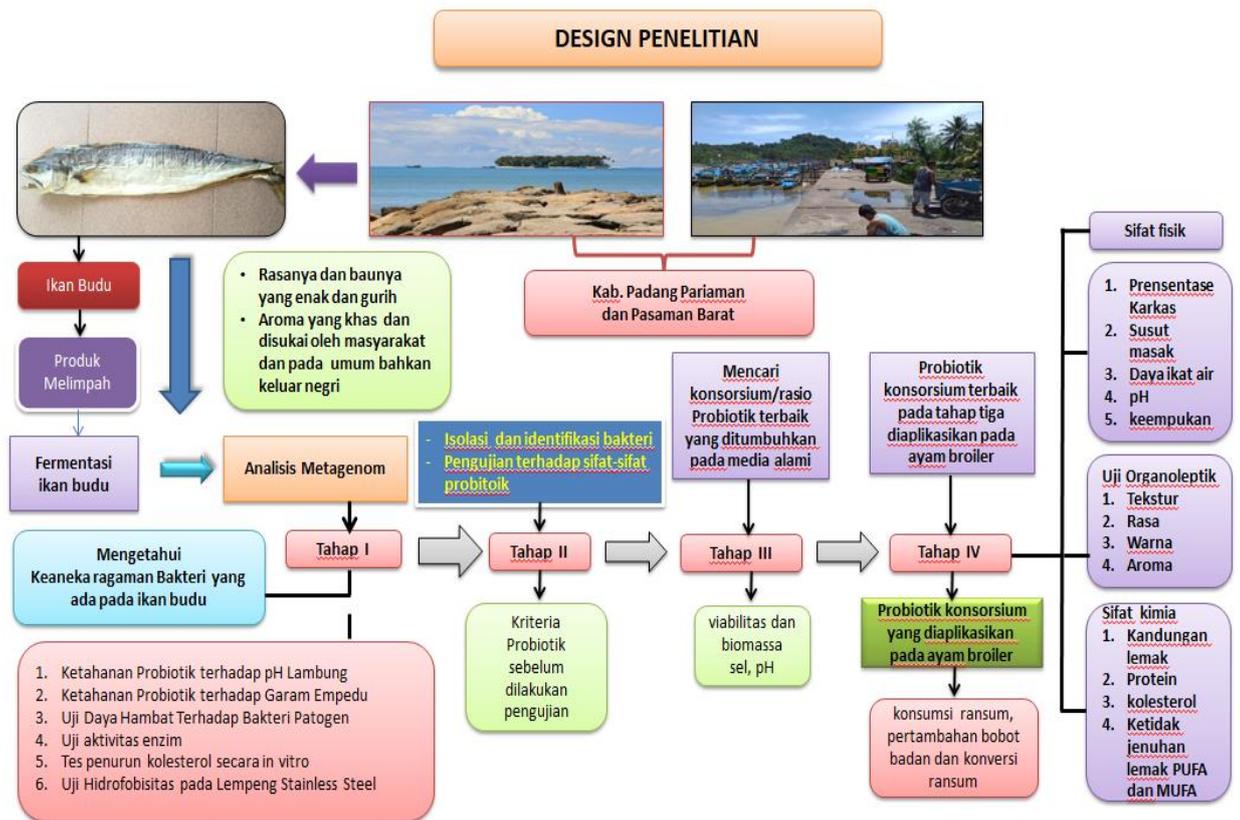


1.7. PETA PERJALANAN (ROAD MAP) DAN DESAIN PENELITIAN

Peta perjalanan (*road map*) terkait dengan temuan metagenomic dari beberapa penelitian dapat dilihat pada Gambar 1 dan desain penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Peta perjalanan (road map) Penelitian



Gambar 2. Desain Penelitian

Pertama melakukan analisis metagenom untuk mengetahui keanekaragaman bakteri yang ada pada ikan budu dan tahap kedua dengan melakukan isolasi dan identifikasi bakteri serta pengujian terhadap sifat-sifat probiotik selanjutnya pada tahap ketiga mencari campuran / rasio dan medium alami sebagai media tumbuh probiotik konsorsium dan pada tahap keempat menguji kombinasi probiotik konsorsium baru yang terdapat pada tahap ketiga dan di aplikasikan pada ayam broiler dengan melihat performa, kualitas karkas (fisik, kimia, kandungan asam lemak jenuh dan tak jenuh) serta pengujian organoleptik (tekstur, rasa, warna, aroma)