



Kandungan Mikrobiologis *Litter* Broiler pada Lama Fermentasi yang Berbeda

(Microbiological content of broiler litter at different times fermentation)

Cahya Setya Utama^{1*}, Sri Sumarsih¹, dan Marikati Nababan²

¹Laboratorium Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

²Program Studi S1 Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

ABSTRAK. Tujuan penelitian adalah mengkaji pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap bakteri asam laktat, bakteri gram positif/negatif, *Salmonella* dan *Escherichia coli* litter broiler. Materi penelitian adalah litter broiler 1 kg, mineral mix, starter mix culture, garam, urea, molases masing-masing 60 gram, NaCl fisiologis 0,85%, alkohol 96%, media MRS, SSA, EMBA, aquades, kristal violet, iodine, dan safranin. Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan, dengan perlakuan litter broiler lama fermentasi yang berbeda T0 (0 hari), T1 (21 hari), T2 (42 hari) dan T3 (63 hari). Parameter penelitian yaitu total bakteri asam laktat (BAL), bakteri gram positif dan negatif, *Salmonella*, dan *Escherichia coli* (*E. coli*). Analisis data menggunakan uji ANOVA, dan jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji DMRT, dengan taraf signifikansi 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi yang berbeda memengaruhi total bakteri asam laktat (BAL) litter broiler fermentasi. Semakin lama durasi fermentasi, semakin tinggi total BAL litter broiler. Lama fermentasi yang berbeda tidak memengaruhi skor bakteri gram positif dan negatif litter broiler. Bakteri yang tumbuh pada litter broiler fermentasi berasal dari famili *Staphylococcaceae* (13,95%), *Bacillaceae* (32,57%), *Streptococcaceae* (23,26%), *Saccharomycetaceae* (6,98%), dan *Pseudomonadaceae* (23,26%). Bakteri gram positif litter broiler fermentasi berbentuk batang, tidak berspora, soliter, *diplococcus*, sedangkan bakteri gram negatif berbentuk batang dan soliter. Tidak ditemukan bakteri *Salmonella sp.* dan *E. coli* pada litter broiler fermentasi. Lama fermentasi yang berbeda mampu meningkatkan kualitas litter broiler, ditinjau dari total BAL. Litter broiler fermentasi berpotensi dijadikan sebagai alternatif bahan pakan, mengandung 1–3 gram positif dan 0 - 1 gram negatif, serta tidak ditemukan bakteri *Salmonella sp.* dan *E. coli*. Perlakuan yang direkomendasikan yaitu litter broiler dengan lama fermentasi 42 hari, dengan jumlah bakteri asam laktat sebanyak 2,4 log CFU/g.

Kata Kunci: Bakteri asam laktat, *Escherichia coli*, gram positif/negatif, litter broiler fermentasi, *Salmonella*

ABSTRACT. The aim of the study was to examine the effect of different fermentation times on lactic acid bacteria, gram positive/negative bacteria, *Salmonella* and *Escherichia coli* litter broilers. The research material is broiler litter 1 kg, mineral mix, starter mix culture, salt, urea, molasses 60 grams each, 0.85% physiological NaCl, 96% alcohol, MRS media, SSA, EMBA, aquades, crystal violet, iodine, and safranin. The study design used a completely randomized design (CRD) with 4 treatments and 4 replications, with broiler litter treatments with different fermentation times T0 (0 days), T1 (21 days), T2 (42 days) and T3 (63 days). The research parameters were total lactic acid bacteria (LAB), gram positive and negative bacteria, *Salmonella*, and *Escherichia coli* (*E. coli*). Data analysis used the ANOVA test, and if there were differences, it was continued with the DMRT test, with a significance level of 5%. The results showed that different fermentation time affected the total lactic acid bacteria (LAB) in fermented broiler litter. The longer the duration of fermentation, the higher the total LAB of broiler litter. Different fermentation time did not affect the score of gram positive and negative bacteria in broiler litter. The bacteria growing in fermented broiler litter came from the family *Staphylococcaceae* (13.95%), *Bacillaceae* (32.57%), *Streptococcaceae* (23.26%), *Saccharomycetaceae* (6.98%), and *Pseudomonadaceae* (23.26%). Gram-positive bacteria fermented broiler litter are rod-shaped, non-sporing, solitary, *diplococcus*, while gram-negative bacteria are rod-shaped and solitary. No bacteria *Salmonella sp.* and *E. coli* were found in fermented broiler litter. Different fermentation time can improve broiler litter quality, in terms of total LAB. Fermented broiler litter has the potential to be used as an alternative feed ingredient, containing 1-3 grams positive and 0-1 gram negative, and no *Salmonella sp.* and *E. coli*. The recommended treatment is broiler litter with a fermentation time of 42 days, with the number of lactic acid bacteria as much as 2.4 log CFU/g.

Keywords: *Escherichia coli*, fermented litter broiler, gram positive/negative, Lactic acid bacteria, *Salmonella*

PENDAHULUAN

Litter merupakan alas kandang yang berfungsi memberikan kesejahteraan dan kenyamanan, serta mendukung ayam pedaging (broiler) mengekspresikan kemampuan genetik secara maksimal, sehingga keadaan litter harus

dikendalikan agar tetap baik, terhindar dari kelembapan, produksi dan penguapan amonia berlebihan (Yang *et al.*, 2019). Kemampuan menyerap air yang dimiliki litter, mengakibatkan litter menjadi mudah basah dan lembab. Selain itu adanya kebocoran tempat minum, tumpahan air minum, penyerapan udara lembab, kondensasi, dan ekskreta, dapat mengakibatkan kelembapan berlebih dan berkolerasi dengan potensi lonjakan pelepasan amonia, pertumbuhan bakteri, spora

*Email Korespondensi: cahyasetyautama@gmail.com

Diterima: 29 Juni 2021

Direvisi: 28 September 2021

Disetujui: 27 Januari 2022

DOI: <https://doi.org/10.17969/agripet.v22i1.21501>

jamur, dan organisme biologis lain pada *litter* broiler (Pepper dan Dunlop, 2021). *Litter* yang basah dan lembab tersebut merupakan media yang baik untuk aktivitas mikroorganisme patogen. Mikroorganisme dapat tumbuh subur pada *litter* broiler tinggi kadar air, dan akan berperan dalam memanfaatkan senyawa-senyawa organik, seperti nitrogen organik terutama asam urat yang didegradasi menjadi amonia (Joerger *et al.*, 2020). Polusi amonia yang dihasilkan, dapat menurunkan produktivitas dan kesehatan ternak, serta menimbulkan pencemaran udara (Sheikh *et al.*, 2018). Amonia tersebut berasal dari ekskreta yang mengandung unsur NH_3 , CO dan CO_2 , sehingga berpengaruh terhadap komposisi gas yang ada di udara baik di dalam maupun di luar kandang. Ayam merupakan ternak sensitif dengan amonia, produksi amonia berlebih akan mengganggu produktivitas ayam, misalnya meningkatkan amonia darah, memperburuk beban detoksifikasi dan menyebabkan keracunan amonia, sedangkan bagi lingkungan amonia akan meningkatkan emisi gas di atmosfer yang mengganggu keseimbangan global dan menyebabkan polusi udara (Li *et al.*, 2021).

Umumnya bahan *litter* yang digunakan di Indonesia berasal dari sekam padi, karena mudah ditemukan, kemampuan menyerap air yang baik, serta lebih menguntungkan dari aspek ekonomi. Akhir pemeliharaan broiler, *litter* akan terdiri atas campuran sekam dan *manure* (kotoran) broiler, sehingga berpotensi sebagai tempat tumbuhnya mikroorganisme seperti bakteri dan jamur (Utama *et al.*, 2021). *Litter* dengan pengolahan terlebih dahulu berpotensi dijadikan sebagai pakan ruminansia. Hal tersebut karena kandungan nutrisi *litter* yang cukup baik, seperti protein kasar dan *total digestible nutrients* (TDN), mencapai 25-50% dan 55-60% (Rahimi *et al.*, 2018). *Litter* broiler memiliki kandungan kadar air 22,71%, abu 25,55%, protein kasar 13,13%, serat kasar 24,31%, lemak 2,47% dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) 34,54% (Utama dan Christiyanto, 2021). Penggunaan *litter* broiler sebagai pakan ternak harus memperhatikan proses pengolahan dan keamanan *litter* untuk pakan ternak (Kurniawan *et al.*, 2019).

Litter yang tidak diolah bila diberikan sebagai pakan kepada ternak ruminansia, dapat mengganggu kesehatan ternak, karena adanya cemar dan serat kasar tinggi pada *litter* broiler (Utama dan Christiyanto, 2021). Pengolahan *litter* diperlukan untuk mengurangi bahkan menghilangkan cemar mikroorganisme patogen, vaksin, obat dan antibiotik, yang dapat dilakukan

dengan perlakuan fermentasi, penambahan bahan kimia dan pemanasan. Pengolahan dengan fermentasi lebih disarankan, karena fermentasi dapat menurunkan jumlah mikroorganisme patogen penyebab penyakit, melalui mekanisme produksi asam (Rakhmanova *et al.*, 2018). Fermentasi merupakan suatu proses biokimia melibatkan mikroorganisme yang dilakukan dengan menambahkan substrat dan starter, dan terjadi pada kondisi tertentu, sesuai dengan tujuan melakukan fermentasi (Utama *et al.*, 2021).

Keberhasilan fermentasi dipengaruhi oleh waktu atau lama fermentasi (Desy Rachmatullah *et al.*, 2021). Waktu fermentasi yang lebih lama dapat menurunkan jumlah mikroorganisme seperti bakteri asam laktat, karena nutrisi dibutuhkan untuk hidup sudah tidak tercukupi (Kinteki *et al.*, 2018). Sedangkan lama fermentasi terlalu singkat, membuat proses fermentasi tidak berjalan maksimal, sesuai dengan tujuan fermentasi (Wang *et al.*, 2022). Hal tersebut karena komponen penyusun *litter* belum sepenuhnya terdekomposisi oleh mikroorganisme fermentasi, sehingga sangat penting untuk mengetahui lama fermentasi terbaik *litter* fermentasi. *Litter* fermentasi berpotensi sebagai pakan alternatif bagi ruminansia yang aman dan tidak mengandung anti nutrisi, serta sebagai solusi kekurangan pakan ketika musim kemarau. Semakin menurunnya jumlah lahan pakan dan kondisi iklim yang tidak menentu, menjadi hambatan dalam penyediaan pakan ternak ruminansia, sehingga diperlukan alternatif pakan untuk menunjang produksi ternak (Mayulu *et al.*, 2020).

Tujuan penelitian adalah mengkaji pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap bakteri asam laktat, bakteri gram positif/negatif, *Salmonella* dan *Escherichia coli* *litter* broiler. Manfaat penelitian adalah menjadi sumber informasi kandungan mikrobiologis *litter* broiler fermentasi, sehingga dapat menjadi acuan dalam pengolahan dan pemanfaatan limbah *litter* yang dihasilkan peternakan broiler. Hipotesis penelitian adalah lama fermentasi yang berbeda memengaruhi bakteri asam laktat, bakteri gram positif/negatif, *Salmonella* dan *Escherichia coli* *litter* broiler.

MATERI DAN METODE

Materi penelitian adalah *litter* broiler, mineral mix, starter *mix culture*, garam, urea, molases, NaCl fisiologis 0,85%, alkohol 96%, *de man rogosa and sharpe* agar (MRS), *Salmonella Shigella* Agar (SSA), *Eosin Methylene Blue* Agar

(EMBA), aquades, *kristal violet*, *iodine*, dan *safranin*. Alat yang digunakan adalah cawan petri, inkubator, jarum ose Rofa, bunsen burner, kaca preparat, colony counter Funke Gerber, erlenmeyer 200 ml dan tabung reaksi. Metode yang dilakukan terdiri dari 4 tahap meliputi tahap persiapan, tahap perlakuan, pengambilan data, dan analisis data.

Tahap Persiapan

Penelitian diawali dengan mengumpulkan *litter* broiler dari 16 kandang yang berasal dari tiga daerah yaitu Kota Semarang, Kabupaten Kendal, dan Kabupaten Demak. *Litter* ditimbang sebanyak 1 kg dari setiap kandang, dan dilakukan pencampuran sampai homogen. *Litter* selanjutnya dikeringkan di bawah sinar matahari, kemudian dibagi menjadi 16 bagian dan dimasukkan ke dalam plastik sesuai perlakuan. Selanjutnya dilakukan penambahan starter dan substrat masing-masing sebanyak 6% (Utama *et al.*, 2019). Substrat dan starter yang ditambahkan antara lain 60 gram mineral, 60 gram urea, 60 gram garam, 60 ml molases yang dicampur air 100 ml dan 60 gram starter *mix culture*. Semua bahan dicampur sampai homogen, dan dimasukkan ke dalam fermentor untuk dilakukan fermentasi secara *an aerob* fakultatif sesuai perlakuan.

Tahap Perlakuan

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan, dengan masing-masing perlakuan terdiri atas 4 ulangan. Adapun perlakuan penelitian sebagai berikut:

T0 : *Litter* broiler tanpa fermentasi

T1 : *Litter* broiler lama fermentasi 21 hari

T2 : *Litter* broiler lama fermentasi 42 hari

T3 : *Litter* broiler lama fermentasi 63 hari

Parameter penelitian yaitu total bakteri asam laktat (BAL), bakteri gram positif dan negatif, *Salmonella*, dan *Escherichia coli*.

Metode Pengambilan Data

Penentuan Total Bakteri Asam Laktat

Penentuan jumlah koloni bakteri asam laktat dilakukan dengan menggunakan metode *total plate count* (TPC). Sampel dimasukkan sebanyak 1 gram ke dalam 9 ml NaCl fisiologis 0,85%, lalu diencerkan sampai pengenceran 10^3 CFU/g secara serial. Selanjutnya 0,1 ml dari pengenceran 10^2 sampai 10^0 CFU/g ditanam pada cawan petri berisi media *de mann ragosa sharpe agar* (MRS). Media agar yang ditanam dengan sampel di inkubasi pada suhu 30-37°C selama 48 jam, sesuai dengan prosedur Yang *et al.* (2019).

Jumlah BAL dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan sebagai berikut.

Jumlah BAL (CFU/g) = Jumlah Koloni × Pengenceran

Pewarnaan Gram Positif dan Gram Negatif

Variabel pewarnaan gram positif/negatif adalah identifikasi jenis bakteri dan skor bakteri gram positif/ negatif. Identifikasi bakteri gram positif dan gram negatif dilakukan dengan identifikasi mikroskopik. Kemudian isolat bakteri diambil menggunakan jarum ose secara aseptis. Kaca preparat disiapkan, sampel dicampurkan dengan 2 tetes aquades steril di atas kaca tersebut, kemudian dilakukan pengeringan dengan menggunakan api bunsen. Pewarnaan dilakukan dengan larutan kristal violet yang ditetaskan selama 1 menit, kemudian dibilas. Selanjutnya larutan iodine ditetaskan selama 3 menit. Preparat ditetesi dengan larutan alkohol 96%, sampai warna ungu hilang. Larutan safranin selanjutnya ditetaskan, dibiarkan selama 60 detik sampai menyerap, dibilas, dan dikeringkan dengan menggunakan api bunsen. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x untuk mengamati bentuk sel dan warnanya. Jika bakteri berwarna merah muda termasuk golongan gram negatif, sesuai dengan prosedur Yang *et al.* (2019). Hasil identifikasi selanjutnya digabungkan dan dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Identifikasi Bakteri} = \frac{\text{Jumlah Bakteri}}{\text{Jumlah Bakteri Gram Positif} + \text{Bakteri Gram Negatif}} \times 100$$

Hasil identifikasi bakteri gram positif dan gram negatif selanjutnya ditabulasi dan dilakukan skoring dengan ketentuan sebagai berikut.

Skor 0 = terdapat 0 gram positif dan 0 gram negatif pada *litter* broiler fermentasi

Skor 1 = terdapat 3/2/1 gram positif dan 2/3 gram negatif pada *litter broiler* fermentasi

Skor 2 = terdapat 3/2/1 gram positif dan 1 gram negatif pada *litter* broiler fermentasi

Skor 3 = terdapat 1 gram positif dan 0 gram negatif pada *litter* broiler fermentasi

Skor 4 = terdapat 2 gram positif dan 0 gram negatif pada *litter* broiler fermentasi

Skor 5 = terdapat 3 gram positif dan 0 gram negatif pada *litter* broiler fermentasi

Hasil skoring akan dilanjutkan pada pengujian data menggunakan analisis non parametrik.

Jumlah *Salmonella* sp.

Metode pengukuran jumlah bakteri *Salmonella* sp. dilakukan dengan metode TPC. Sampel dihaluskan, diambil sebanyak 10 gram dan

diletakkan di atas aluminium foil. Sampel kemudian dicampurkan ke dalam 9 ml akuades steril, dikocok beberapa detik sampai larutan homogen, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Sebanyak 1 ml larutan pada pengenceran 10^{-1} diambil, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades steril yang baru, sebagai pengenceran 10^{-2} . Sebanyak 1 ml dari larutan suspensi sampel pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} , diambil dan dituangkan pada media *Salmonella shigella agar* (SSA). Media di inkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam, serta diamati dan dihitung jumlah koloni bakteri pada media. Kriteria media positif terdapat koloni *Salmonella sp.*, diketahui dengan melihat warna media, yakni dengan warna transparan dengan bintik hitam di bagian tengahnya. Bahan yang tercemar oleh bakteri *Salmonella sp.*, diketahui dengan mengamati media SSA dengan morfologi bakteri bulat, pinggiran rata dan elevasinya cembung, terjadi perubahan warna media, yaitu merah pada permukaan miring dan kuning pada dasar, sesuai prosedur Fatiqin *et al.* (2019).

Jumlah *Escherichia coli*

Metode pengukuran jumlah bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) dilakukan dengan metode TPC. Pengambilan data dilakukan dengan cara biakan campuran diencerkan dengan menggunakan medium agar yang telah dicairkan dan didinginkan. Pengenceran selanjutnya dilakukan sampai diperoleh koloni tunggal. Bahan yang terkontaminasi bakteri *E. coli* maka hasil penumbuhan pada *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) memperlihatkan koloni berwarna hijau metalik, diameter 2-3 mm dengan titik hitam di bagian tengah koloni, sesuai dengan prosedur Prihanto *et al.* (2018).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA), dan jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikansi 5% (Utama *et al.*, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian dengan parameter total bakteri asam laktat dan skor bakteri gram positif/negatif *litter* ayam pedaging (broiler) fermentasi pada lama fermentasi berbeda disajikan pada Tabel 1. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa

terdapat pengaruh nyata ($P < 0,05$) pada perlakuan lama fermentasi yang berbeda terhadap total bakteri asam laktat *litter* fermentasi, namun pada parameter skoring bakteri gram positif/ negatif tidak terdapat pengaruh nyata ($P > 0,05$).

Tabel 1. Total bakteri asam laktat dan skor bakteri gram positif/ negatif *litter* broiler fermentasi pada lama fermentasi berbeda

Parameter	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
Total BAL (log CFU/g)	0,5±1,00 ^b	2,1±0,17 ^a	2,4±0,24 ^a	2,5±0,05 ^a
Skor bakteri gram positif/negatif	2,50±1,00	3,25±1,50	2,00±2,00	2,75±1,50

Keterangan:

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

T0 = *Litter* broiler tanpa fermentasi;

T1 = *Litter* broiler lama fermentasi 21 hari;

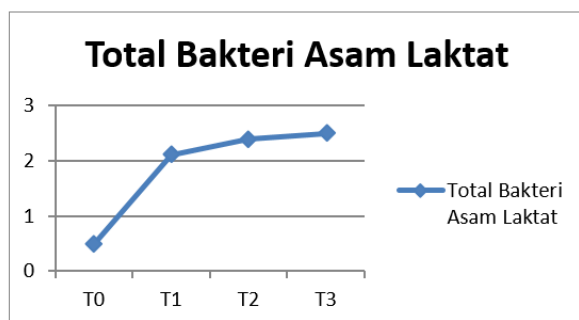
T2 = *Litter* broiler lama fermentasi 42 hari;

T3 = *Litter* broiler lama fermentasi 63 hari.

Uji lanjut yang dilakukan diketahui bahwa total bakteri asam laktat (BAL) pada T0 berbeda nyata dengan T1, T2 dan T3, sedangkan perlakuan T1, T2 dan T3 tidak berbeda nyata satu dengan yang lain. Lama fermentasi berbeda mampu meningkatkan total BAL *litter* broiler. Hal tersebut karena semakin lama fermentasi, memberikan kesempatan BAL dapat hidup lebih lama pada *litter*. Yang *et al.* (2019) menyatakan bahwa salah satu potensi pakan dapat ditunjukkan dengan populasi bakteri asam laktat yang signifikan, sehingga bermanfaat yang baik bagi kesehatan inang. Meningkatnya jumlah bakteri asam laktat selama fermentasi disebabkan pada fase logaritmik sel-sel bakteri asam laktat akan tumbuh, dan membelah diri secara eksponensial sampai jumlah maksimum, sehingga menghasilkan asam laktat yang tinggi. BAL yang ada pada *litter* broiler fermentasi, kemudian akan berperan dalam penurunan mikroorganisme patogen. Ringo *et al.* (2020) menyatakan bahwa aktivitas BAL yang semakin meningkat, dapat menghambat adhesi dan kolonisasi bakteri patogen.

Perlakuan T0 memberikan hasil total BAL paling rendah, karena pada perlakuan tersebut tidak dilakukan fermentasi. Bakteri asam laktat dapat tumbuh baik pada lingkungan pH asam, yang dapat diperoleh dari proses fermentasi, sehingga tanpa adanya fermentasi pertumbuhan BAL menjadi terhambat. Semakin lama durasi

fermentasi, maka akan semakin banyak BAL tumbuh dan berkembang, selama kondisi sesuai dan nutrisi masih tercukupi. Adanya BAL akan menekan bakteri gram negatif. Mukodiningsih *et al.* (2019) menyatakan bahwa adanya BAL (gram positif) dapat menurunkan bakteri gram negatif pada bahan dengan mekanisme perusakan membran luar (lapisan lipopolisakarida) dari bakteri gram negatif, yang mengakibatkan anti mikroorganisme dapat masuk dan menekan perkembangan bakteri gram negatif. Perlakuan T1, T2, dan T3 atau perlakuan fermentasi tidak berbeda nyata, karena BAL telah tumbuh optimal sampai 3 minggu pada *litter* fermentasi. Hal tersebut mengakibatkan pada minggu ke 6 dan minggu ke 9, pertumbuhan BAL semakin sedikit, dan memberikan hasil yang tidak berbeda nyata. Zhang *et al.* (2021) menyatakan bahwa lama fermentasi yang lebih panjang, memungkinkan pembentukan bakteri hidrolitik, yang akan menghasilkan gula lebih banyak dan mendukung BAL untuk tumbuh.



Gambar 1. Grafik Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada *Litter* Fermentasi

Perlakuan fermentasi mampu meningkatkan total BAL *litter*, sehingga diharapkan memberikan manfaat baik saat dijadikan sebagai pakan. Yeh *et al.* (2018) menyatakan bahwa pengolahan pakan dengan perlakuan fermentasi meningkatkan total BAL, sehingga dapat meningkatkan jumlah asam organik dan menurunkan nilai pH menjadi asam. Pertumbuhan BAL terjadi mengikuti pola eksponensial sampai pertumbuhan maksimal, dan semakin menurun tergantung ketersediaan nutrisi dalam bahan dan kondisi lingkungan. Total BAL dipengaruhi oleh nutrisi dalam bahan, dan BAL dapat bertambah dan bertahan hidup dengan memanfaatkan substrat yang ada pada bahan. Utama *et al.* (2020) menyatakan bahwa faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri pada perlakuan fermentasi antara lain substrat yang terkandung dalam bahan, nilai pH dan suhu. Berdasarkan parameter total BAL, perlakuan yang

direkomendasikan adalah perlakuan T2 (*litter* broiler lama fermentasi 42 hari). Hal tersebut karena perlakuan T2 memberikan hasil BAL yang tinggi dengan durasi fermentasi yang lebih singkat, dan total BAL hanya berbeda sedikit dengan T3 dengan durasi fermentasi yang lebih panjang.

Perlakuan lama fermentasi yang berbeda tidak memberikan pengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap skor bakteri gram positif/ negatif. *Litter* fermentasi memiliki skor 2,00 – 3,25, artinya terdapat 1 – 3 gram positif dan 0 – 1 gram negatif pada *litter* broiler fermentasi. Jumlah bakteri gram positif lebih tinggi dibandingkan bakteri gram negatif pada *litter* broiler fermentasi. Gram positif pada *litter* fermentasi yang lebih tinggi disebabkan karena BAL. Chomwong *et al.* (2018) menyatakan bahwa BAL menyumbang jumlah gram positif pada bahan dan terbukti menunjukkan efek anti bakteri terhadap bakteri patogen. Semakin lama proses fermentasi *litter* akan meningkatkan jumlah bakteri gram positif dan menekan bakteri gram negatif. Permanti *et al.* (2018) menyatakan bahwa lama fermentasi akan meningkatkan gram positif dan menekan gram negatif, akibat mikroorganisme dekomposer menggunakan prebiotik yang terkandung pada *litter*, sehingga dapat memperbaiki kualitas *litter* melalui dekomposisi materi organik, menyeimbangkan jumlah populasi mikroorganisme, serta menekan pertumbuhan bakteri patogen.

Berdasarkan skor bakteri gram positif dan negatif *litter* broiler fermentasi perlakuan yang paling direkomendasikan adalah perlakuan T2 (*litter* broiler lama fermentasi 42 hari). Hal tersebut karena pada perlakuan tersebut memberikan hasil yang paling rendah secara deskriptif, meskipun tidak berpengaruh nyata saat diuji ragam. Perlakuan T2 dengan skor 2 memiliki kemungkinan jumlah bakteri gram positif 1 – 3, dan bakteri gram negatif 1. Berdasarkan jumlah BAL perlakuan T1, T2, dan T3 tidak berbeda nyata, sehingga semakin meyakinkan bahwa bakteri gram positif pada T2 berpotensi lebih dari 1 jenis, dibandingkan perlakuan lain yang memiliki skor 2 – 3. Rendahnya bakteri gram negatif pada *litter* fermentasi berpotensi untuk dijadikan bahan pakan alternatif.

Bakteri Gram Positif dan Negatif *Litter* pada Lama Fermentasi yang Berbeda

Hasil biakan bakteri gram positif dan gram negatif dari *litter* fermentasi disajikan pada Tabel 2. Jenis bakteri yang tumbuh dan diamati

merupakan hasil pewarnaan gram dan pengamatan pada bentuk bakteri yang diamati yang disesuaikan dengan studi pustaka. Adapun data bakteri yang berhasil diamati dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil biakan bakteri dari *litter* fermentasi (Tabel 2) menunjukkan bahwa 16 sampel yang diamati tumbuh bakteri, yang berasal dari 5 famili yaitu 4 bakteri gram positif dan 1 bakteri gram negatif. Empat bakteri gram positif yang ditemukan yaitu *Staphylococcaceae* berjumlah 6 bakteri (13,95%), *Bacillaceae* berjumlah 14 bakteri (32,57%), *Streptococcaceae* berjumlah 10 bakteri (23,26%), dan *Saccharomycetaceae* berjumlah 3 bakteri (6,98%), serta satu bakteri gram negatif yaitu *Pseudomonadaceae* berjumlah 10 bakteri (23,26%). Dinding sel adalah salah satu hal yang membedakan antara bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif lebih resisten terhadap lisis osmotik dibandingkan bakteri gram negatif. Pajerski *et al.* (2019) menyatakan bahwa perbedaan utama antara bakteri gram positif dan gram negatif adalah pada

struktur dinding sel, keduanya tersusun atas polimer peptidoglikan, namun gram positif memiliki dinding sel lebih tebal dibandingkan gram negatif, di mana dinding sel berperan dalam perlindungan sel terhadap dampak negatif berupa fisik, kimia, dan biologi, serta mengendalikan bentuk karakteristik sel. Dinding sel bakteri gram positif seperti *Staphylococcaceae*, *Bacillaceae*, *Streptococcaceae*, dan *Saccharomycetaceae* banyak dilapisi peptidoglikan, sedangkan dinding sel bakteri gram negatif seperti *Pseudomonadaceae* lapisan peptidoglikannya lebih sedikit. Adanya bakteri gram negatif *Pseudomonadaceae* pada *litter* broiler fermentasi diduga bakteri genus *Pseudomonas* yang umumnya hidup pada tempat lembab seperti *litter*. Bakteri genus tersebut umumnya dimanfaatkan sebagai mikroorganisme bagi tanaman. Nikel dan Lorenzo (2018) menyatakan bahwa bakteri *Pseudomonas* merupakan bagian dari sekelompok mikroorganisme tanah yang sering bertahan pada kondisi lingkungan ekstrim karena memiliki ketahanan metabolik dan fisiologis.

Tabel 2. Hasil biakan bakteri gram positif dan gram negatif *litter* fermentasi

Jenis Bakteri Gram Positif	n	Morfologi Genus	(%)
<i>Staphylococcaceae</i>	6	Coccus, bergerombol, Gram +	13,95
<i>Pseudomonadaceae</i>	10	Batang, soliter, Gram -	23,26
<i>Bacillaceae</i>	14	Batang, soliter, Batang, berderet, berspora, Gram +	32,57
<i>Streptococcaceae</i>	10	Coccus, duplo, Gram +	23,26
<i>Saccharomycetaceae</i>	3	Yeast, gram +	6,98
Total	43		100
Jenis Bakteri Gram Negatif	n	Morfologi Genus	(%)
<i>Salmonella</i>	0	Batang, tidak berspora Gram -	0
<i>Eschericia coli</i>	0	Batang pendek, tidak berspora Gram -	0
Total	0		0

Bakteri gram positif yang terdapat pada *litter* fermentasi berbentuk batang, tidak berspora, tidak bergerombol/hidup sendiri-sendiri (soliter), dan berbentuk dua sel yang bergabung (*duplococcus*). Manullang *et al.* (2018) menyatakan bahwa kelompok jenis bakteri gram positif memiliki bentuk *coccus* (bulat), atau *bacillus* (batang), tidak membentuk spora, katalase negatif, dan oksidase positif. Adanya fermentasi *litter* menghasilkan asam laktat, dan BAL yang tumbuh adalah famili *Lactobacillaceae*, yaitu *Lactobacillus*, dan famili *Streptococcaceae* terutama *Leuconostoc*, *Streptococcus* dan *Pediococcus*. Putri *et al.* (2018) menyatakan bahwa BAL dapat memanfaatkan gula yang ada pada dan menghasilkan produk berupa asam laktat, adanya produksi asam laktat yang cepat, maka dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan

kehadirannya. Sementara bakteri gram negatif *Pseudomonadaceae* yang terdapat pada *litter* broiler fermentasi, memiliki bentuk batang dan hidup soliter. Nikel dan Lorenzo (2018) menyatakan bahwa bakteri gram negatif yang berasal dari famili *Pseudomonadaceae* memiliki sel berbentuk batang pendek atau berbentuk bulat dan tidak mempunyai endospora.

Kandungan *Salmonella sp.* Litter pada Lama Fermentasi yang Berbeda

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat (negatif) bakteri *Salmonella sp.* pada *litter* fermentasi (Tabel 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa *litter* fermentasi pada semua perlakuan, aman dari bakteri *Salmonella sp.* *Salmonella sp.* merupakan bakteri berukuran pendek (1- 2 μm), termasuk gram negatif, berbentuk batang dan tidak membentuk spora,

serta umumnya memiliki struktur yang memungkinkan mereka untuk bergerak sendiri. Fatiqin *et al.* (2019) menyatakan bahwa *Salmonella sp.* adalah bakteri *anaerob fakultatif*, yang secara biokimia dikarakterisasi dengan kemampuannya memfermentasi glukosa yang memproduksi asam dan gas, dan ketidakmampuannya menggunakan laktosa dan sukrosa. Tidak ditemukannya *Salmonella sp.* pada *litter* fermentasi, karena kondisi *litter* yang tidak sesuai dengan pertumbuhan bakteri tersebut, di mana *litter* telah diberikan perlakuan sebelumnya berupa penjemuran di bawah sinar matahari. Chen *et al.* (2020) menyatakan bahwa perlakuan panas yang diberikan pada *litter* broiler dapat menurunkan jumlah bakteri *Salmonella sp.*, dan penurunan jumlah bakteri tersebut dipengaruhi oleh kadar air awal *litter*, kandungan logam berat, serta umur ayam yang menghasilkan ekskreta. Selain adanya pemanasan, tidak adanya bakteri *Salmonella sp.* juga disebabkan karena bakteri tersebut kalah bersaing dengan bakteri gram positif yang tumbuh selama fermentasi *litter*, dan kondisi lingkungan menjadi tidak sesuai untuk pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* Hasil pengujian *Salmonella* yang negatif dapat terjadi karena *Salmonella sp.* merupakan salah satu jenis bakteri yang berasal dari golongan *Enterobacter*, yang memerlukan kondisi khusus yang optimal untuk berkembang biak dan tumbuh. Manajemen pemeliharaan ayam broiler juga memengaruhi kandungan *Salmonella sp.* yang tumbuh pada *litter*. Landínez (2019) menyatakan bahwa keberadaan *Salmonella sp.* dalam *litter* broiler sangat dipengaruhi oleh manajemen peternakan, pakan dan air minum ayam, serta hewan liar seperti serangga dan burung yang dapat menjadi pembawa *Salmonella sp.*

Kandungan *Escherichia coli* Litter pada Lama Fermentasi yang Berbeda

Hasil penelitian pada Tabel 2. menunjukkan bahwa tidak terdapat bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) pada *litter* broiler fermentasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa *litter* broiler fermentasi pada semua perlakuan, aman dari bakteri *E. coli*. Tidak ditemukannya bakteri *E. coli* pada *litter* broiler fermentasi diduga karena adanya aktivitas bakteri asam laktat saat fermentasi *litter*. Bakteri asam laktat (BAL) selain menghasilkan asam laktat dan asam asetat, juga menghasilkan senyawa yang bersifat antagonistik dan memiliki spektrum penghambatan yang cukup luas. BAL menghasilkan senyawa seperti asam format, asam lemak bebas, amonia, etanol, hidrogen peroksida,

diasetil, antibiotik, enzim yang bersifat bakteriolitik dan bakteriosin, sehingga menjadi indikasi kuat tidak ditemukannya bakteri *E. coli* pada *litter* broiler fermentasi. Reuben *et al.* (2019) menyatakan bahwa beberapa strain BAL memiliki kemampuan menurunkan aktivitas antagonis enam bakteri patogen yaitu *E. coli*, *E. coli* O157: H7, *E. faecalis*, *S. typhimurium*, *S. Enteritidis* dan *L. monocytogenes* dengan spektrum penghambatan yang luas. Proses fermentasi juga menghasilkan senyawa polifenol yang diketahui memiliki sifat anti bakteri, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli*. Sama halnya dengan *Salmonella sp.*, keberadaan bakteri *E. coli* juga merupakan salah satu indikator keamanan pakan. Keberadaan *E. coli* harus diwaspadai dalam bahan pakan karena dapat memberikan dampak kepada ternak, dan dapat menular dari satu ternak ke ternak lain, bahkan menular ke manusia (*zoonosis*). Selain dampak bagi ternak yang mengkonsumsi pakan, bila terkontaminasi manusia, *E. coli* dapat menjadi sumber penyakit yang dapat mengakibatkan diare dan gangguan kulit, sehingga penurunan *E. coli* (bakteri patogen) dengan perlakuan fermentasi dapat meningkatkan kualitas *litter*. Sandoz dan Rockey (2020) menyatakan bahwa *E. coli* merupakan salah satu spesies bakteri yang kompleks, yang memiliki keragaman dan diklasifikasikan sebagai patogen

KESIMPULAN

Lama fermentasi yang berbeda mampu meningkatkan kualitas *litter* broiler, ditinjau dari total BAL. *Litter* broiler fermentasi berpotensi dijadikan sebagai alternatif pakan ruminansia, mengandung 1 – 3 gram positif dan 0 - 1 gram negatif, serta tidak ditemukan bakteri *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*. Perlakuan yang direkomendasikan yaitu *litter* broiler dengan lama fermentasi 42 hari, dengan jumlah bakteri asam laktat sebanyak 2,4 log CFU/g.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas fasilitas Penelitian Dasar Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Riset dan Pengembangan, serta kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, dengan nomor penugasan 225-67/UN7.6.1/PP/2020 tanggal 20 Maret 2020. Terima kasih kepada Oktavianus Barus dan Muhammad Fikri Haidar, atas kontribusinya

dalam penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, Z., Dharmasena, J., Ionita, M., Jiang, C., Rieck, X., and James., 2020. Thermal inactivation of desiccation-adapted *Salmonella* spp. in aged chicken litter. *App. and Environ. Microbiol.* 79(22): 7013–7020.
- Chomwong, S., Charoensapsri., Amparyup, W., Tassanakajon, P., and Anchalee. 2018. Two host gut-derived lactic acid bacteria activate the proPO system and increase resistance to an AHPND-causing strain of *Vibrio parahaemolyticus* in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Develop. and Comparative Immun.* 89: 54–65.
- Rachmatullah, D., Nuriza, D., dan Harini. F.H., 2021. Karakteristik biji kakao (*Theobroma cacao* L.) hasil fermentasi dengan ukuran wadah berbeda. *J. Ilmiah Ilmu-Ilmu Pertanian.* 15(1): 32–44.
- Fatiqin, A., Novita, R., dan Apriani, I., 2019. Pengujian *Salmonella* dengan menggunakan media ssa dan *E. coli* menggunakan media EMBA pada bahan pangan. *Indobiosains.* 1(1): 22–29. d
- Joerger, R.D., Ganguly, L., Santos, M., MdL., and Hong, L., 2020. Effect of sodium bisulfate amendments on bacterial populations in broiler litter. *Poult. Sci.* 99(11): 5560–5571.
- Kinteki, G.A., Rizqiati, H., dan Hintono, A., 2018. Pengaruh lama fermentasi kefir susu kambing terhadap mutu hedonik, total bakteri asam laktat (BAL), total khamir, dan pH. *J. Teknologi Pangan.* 3(1): 42–50.
- Kurniawan, W., Syamsuddin, Salid, W.L., dan Isnain, P.D., 2019. Evaluasi kualitas, karakteristik fermentasi dan pencernaan in vitro silase campuran sorgum stay green-gliricidia sepium dengan penambahan berbagai level asam laktat. *J. Agripet.* 19 (2): 99–106.
- Li, Z., Miao, Z., Ding, L., Teng, X., and Bao, J., 2021. Energy metabolism disorder mediated ammonia gas-induced autophagy via AMPK/mTOR/ULK1-Beclin1 pathway in chicken livers. *Ecotoxico. and Environ. Safety.* 217: 1-9.
- Manullang, R.R., Rusmini, R., and Daryono, D., 2018. Kombinasi mikroorganisme lokal sebagai bioaktivator kompos combination of local microorganism as compose bioactivators. *J. Hutan Tropis.* 5(3): 259–266.
- Mayulu, H., Suyadi, M., Christiyanto, M., Sunarso., Daru, T.P., and Haris, MI., 2020. In vitro digestibility and fermentation ruminant of buffalo ration based on *Neptunia plena* L. Benth and *Leersia hexandra* Swartz as local resources. *J. Ilmu-Ilmu Peternakan.* 30(2): 148–157.
- Mukodiningsih, S., Sulistiyanto, B., dan Sholikhah, S., 2019. Populasi bakteri dan keberadaan bakteri gram (+) dan (-) dalam pellet calf starter yang ditambah limbah kubis fermentasi. *J. Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan.* 16(3): 65–68.
- Nikel, P.I., and Lorenzo, Vd., 2018. *Pseudomonas putida* as a functional chassis for industrial biocatalysis: From native biochemistry to trans-metabolism. *Metabolic Eng.* 50: 142–155.
- Pajerski, W., Ochonska, D., Wloch, M.B., Indyka, P., Jarosz, M., Golda-Cepa, M., Sojka, Z., and Kotarba, A., 2019. Attachment efficiency of gold nanoparticles by gram-positive and gram-negative bacterial strains governed by surface charges. *J. of Nanoparticle Res.* 21(8): 1-12.
- Pepper, C.M., and Dunlop, MW., 2021. Review of litter turning during a grow-out as a litter management practice to achieve dry and friable litter in poultry production. *Poult. Sci.* 100(6): 1-13.
- Permanti, Y.C., Julyantoro, P.G.S., dan Pratiwi, M.A., 2018. Pengaruh penambahan *Bacillus* sp. terhadap kelulushidupan pasca larva udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang terinfeksi vibriosis. *Aquatic Sci.* 1(1): 91–97.
- Prihanto, A., Timur, H.D.L., Jaziri, H.A., Nurdiani, A., Pradarameswari, R., and Audia, K., 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit mangrove sonneratia alba penghasil enzim gelatinase dari pantai sendang biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesia J. of Halal.* 1(1): 31-42.
- Landínez, M.P., 2019. Food safety - *Salmonella* update in broilers. *Anim. Feed Sci. and Tech.* 250: 53–58.

- Putri, Y., W Putra, A.E., dan Utama, B.I., 2018. Identifikasi dan karakteristik bakteri asam laktat yang diisolasi dari vagina wanita usia subur. *J. Kesehatan Andalas*. 7(3): 20-26.
- Rahimi., M.R., Alijoo, Y., Pirmohammadi, R., and Alimirzaei. M., 2018. Effects of feeding with broiler litter in pellet-form diet on qizil fattening lambs performance, nutrient digestibility, blood metabolites and husbandry economics. *Vet. Res. Forum*. 9(3): 245–251.
- Rakhmanova, A., Khan, Z.A., and Shah, K., 2018. A mini review fermentation and preservation: role of lactic acid bacteria. *MOJ Food Process. and Tech*. 6(5): 414–417.
- Reuben, R.C., Roy, P.C., Sarkar, S.L., Alam, R., and Jahid, IK., 2019. Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC Microbiol*. 19(1): 1–20.
- Ringø, E., Doan, H.V., Lee, S.H., Soltani, M., Hoseinifar, S.H., Harikrishnan, R., and Song, SK., 2020. Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. *J. Applied Microbiol*. 129(1): 116–136.
- Sandoz, K.M., and Rockey, D.D., 2020. Antibiotic resistance in *Chlamydiae*. *Future Microbiol*. 5 (9): 1427–1442.
- Sheikh, I.U., Nissa, S.S., Zaffer, B., Bulbul, K.H., Akand, A.H., Ahmed, H.A., Hasin, D., Hussain, I., and Hussain, SA., 2018. Ammonia production in the poultry houses and its harmful effects. *Int J. of Vet. Sci. and Anim. Husbandry*. 3 (4): 30–33.
- Utama, C.S., Zuprizal, Hanim, C., dan Wihandoyo., 2019. Pengaruh lama autoclave terhadap kualitas kimia wheat pollard yang berpotensi sebagai prebiotik. *J. Aplikasi Teknologi Pangan*. 8(3): 113-123.
- Utama, C.S., and Christiyanto, M., 2021. The Feasibility of fermented litter as a feed ingredient for ruminant livestock. *J. of Adv. Vet. and Anim. Res*. 8(2): 312–322.
- Utama, C.S., Sulistiyanto, B., and Barus, O., 2021. pH, Total bacteria and total fungi litter fermentation at different ripening durations. *J. Sain Peternakan Indonesia*. 16(3): 259–265.
- Utama, C.S., Sugiharto., and Miladiyah, W., 2020. Improving probiotic quality of cabbage waste with vitamin and minerals addition seen from the contents of potential Hydrogen (pH), physical quality of organoleptic and lactic acid bacteria count. *IOP Conf. Series: Earth and Environ. Sci*. 518(1): 1–7.
- Wang, H., Shen, S., Wang, J., Jiang, Y., Li, J., Yang, Y., Hua, J., and Yuan, H., 2022. Novel insight into the effect of fermentation time on quality of Yunnan Congou black tea. *LWT*. 155: 1-11.
- Yang, J., Gao, G., and Zhang, X., 2019. Effect of sodium bisulfate amendments on bacterial populations in broiler litter. *Poult. Sci*. 21(1): 827-839.
- Yeh, R.H., Hsieh, C.W., and Chen, K.L., 2018. Screening lactic acid bacteria to manufacture two-stage fermented feed and pelleting to investigate the feeding effect on broilers. *Poult. Sci*. 97(1): 236–246.
- Zhang, Z., Tsapekos, P., Morales, M.A., and Angelidaki, I., 2021. Impact of storage duration and micro-aerobic conditions on lactic acid production from food waste. *Bioresource Tech*. 323: 1-11.