

Karakteristik produk dan efektivitas enkapsulasi bakteri pendegradasi asam sianida (HCN)

A Mislah¹, S Suharti², I Wijayanti²

¹Mahasiswa Program Pasca Sarjana Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

²Dosen Program Pasca Sarjana Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor
email kontak: harti_ss@yahoo.com

ABSTRAK

Daun singkong pahit (*Manihot esculenta*) memiliki kandungan antinutrisi berupa asam sianida (HCN) yang tinggi, namun HCN dapat di degradasi dengan bakteri rumen. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati karakteristik produk dan efektivitas enkapsulasi bakteri pendegradasi sianida dengan masa simpan (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28 hari) pada suhu ruang. Peubah yang diamati adalah karakteristik produk dan viabilitas bakteri pendegradasi sianida terenkapsulasi. Data yang diperoleh dianalisa dengan sidik ragam (ANOVA) menggunakan program SPSS 16.0. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama penyimpanan berpengaruh terhadap perubahan warna dan bentuk dari produk hasil enkapsulasi. Penyimpanan produk enkapsulasi bakteri pendegradasi sianida selama 3 hari tidak mempengaruhi viabilitas bakteri dibandingkan kontrol. Namun demikian semakin lama penyimpanan produk enkapsulasi bakteri sampai hari ke 28 nyata menurunkan ($P < 0.05$) viabilitas bakteri. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dengan teknik enkapsulasi dapat mempertahankan viabilitas bakteri pendegradasi sianida.

Kata kunci: bakteri pendegradasi sianida, karakteristik produk, penyimpanan, viabilitas

ABSTRACT

Bitter cassava leaves have high antinutrients in the form of cyanide acid (HCN), but HCN can be degraded with rumen bacteria. This research aimed to observe the product characteristics and the effectivity of cyanide degradation bacteria capsulation with different length of storages (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28 days) in the room temperature. The observed variables were product characteristics and viability of cyanide degrading bacteria capsulation. The data obtained were analyzed by Analysis of variance (ANOVA) using SPSS 16.0 program. The results showed that storages duration affected the color and shape of cyanide degradation bacteria capsulation products. The storage of capsulated HCN degrading bacteria up to 3 days did not affect the viability of bacteria compared to the control treatment. However, the longer storage of capsulated bacteria up to 28 days, significant decreased ($P < 0.05$) the viability of the bacteria. It is concluded that capsulation of cyanide degrading bacteria could maintain the viability of bacteria.

Keywords: cyanide degradation bacterial, product characteristics, storage, viability

PENDAHULUAN

Limbah singkong dapat digunakan sebagai salah satu alternatif pakan ternak ruminansia, kandungan nutrisi daun singkong pahit diantaranya 91,32% bahan kering, 10,9% Abu, 18,50% Protein Kasar, 4,83% Lemak kasar, 20,97% Serat Kasar, 44,80% bahan ekstrak tanpa nitrogen, dan 60,77% total digestible nutrient, namun daun singkong pahit memiliki kelemahan, karena daun singkong pahit memiliki kandungan antinutrisi berupa asam sianida (HCN) yang tinggi, berisar antara 690,54 ppm (Oktafiani 2017). Asam sianida (HCN) memiliki efek racun yang dapat mengakibatkan kematian pada ternak jika pemberian melebihi batas toleransi. Efek toksit HCN tidak dapat terlihat sehingga dapat mengakibatkan kematian ternak secara mendadak, karena kurangnya oksigen pada otak dan jantung. HCN akan mengikat enzim sitokrom oksidase sehingga jaringan tidak dapat menggunakan oksigen, jaringan tidak dapat menggunakan oksigen karena adanya penghambatan terhadap reaksi bolak-balik pada enzim-enzim yang mengandung besi dalam bentuk ferri (Fe^{3+}) didalam sel sehingga sel menderita kekurangan oksigen (Novita 2015). Efek sianida (HCN) pada ternak ruminansia telah terbukti dapat diatasi dengan bantuan beberapa mikroba rumen yang dapat menghasilkan enzim yang mampu membantu proses degradasi zat makanan dalam rumen.

Pertumbuhan mikroba rumen dipengaruhi oleh berbagai hal, antara lain temperatur, pH, kapasitas *buffer*, tekanan osmotik, kandungan bahan kering dan potensial oksidasi reduksi cairan rumen (Dehority 2004). Komposisi dan jumlah populasi mikroba dalam rumen dipengaruhi oleh jenis pakan yang diberikan ke ternak ruminansia, ketika ternak terbiasa mengonsumsi pakan dengan serat tinggi maka mikroba yang dominan dalam saluran pencernaan adalah mikroba pencerna serat, begitu pula ketika ternak ruminansia terbiasa mengonsumsi pakan dengan kandungan sianida (HCN) yang tinggi pada ransum maka mikroba yang berkembang adalah mikroba pendegradasi sianida (HCN), diuraikan dari hasil penelitian penggunaan bakteri pendegradasi HCN secara *in vivo* pada ternak domba yang diberi pakan yang mengandung 30% tepung daun singkong pahit mampu meningkatkan pertambahan bobot badan dan efisiensi pakan ternak domba (Oktafiani 2017), serta dengan pemberian inokulasi bakteri pendegradasi HCN pada ternak domba yang diberi pakan 30% tepung daun singkong pahit menunjukkan bahwa populasi protozoa dan bakteri rumen semakin meningkat dengan adanya inokulasi bakteri pendegradasi HCN (Nurlaily 2017).

Novita (2015) telah mengisolasi bakteri yang memiliki 99% kemiripan dengan susunan nukleotida dari *Sharpea azabuensis*, *Bovine rumen bacterium*, dan *Lachnospiraceae bacterium* yang mampu menurunkan kadar HCN sebanyak 72-74% sehingga tidak menimbulkan dampak negatif bagi ternak ruminansia. Oleh karena itu perlu suplementasi probiotik bakteri yang dapat mendegradasi HCN. Selain itu, permasalahan yang dihadapi masyarakat terkait dengan penggunaan probiotik adalah masa simpan, dikarenakan probiotik mudah rusak pada ruang terbuka sehingga membutuhkan *freezer* untuk tetap menjaga agar probiotik tetap hidup. Sehingga dalam pendistribusian probiotik bakteri ke daerah-daerah terpencil sulit dilakukan. Oleh karena itu dibutuhkan teknologi enkapsulasi untuk mempertahankan viabilitas serta melindungi bakteri dari kerusakan akibat lingkungan yang tidak menguntungkan.

Metode enkapsulasi kultur bakteri yang sering digunakan yaitu pengeringan beku (*freeze drying*) dan pengeringan semprot (*spray drying*) (Morgan *et al.*, 2006; Peighambardoust *et al.*, 2011). Pacifico *et al.*, (2001) menyatakan bahwa mikroorganisme yang bersifat peka dapat dienkapsulasi untuk meningkatkan viabilitas dan umur

simpannya. Keberhasilan proses enkapsulasi dipengaruhi oleh jenis matriks yang digunakan. Matriks merupakan bahan enkapsulan yang digunakan untuk penyalut dan melapisi bakteri pada proses enkapsulasi (Nazzaro *et al.*, 2012). Erdiandini *et al.* (2015) menjelaskan bahwa matriks harus mampu berperan sebagai pelindung bagi bakteri, aman dikonsumsi dan harganya murah sehingga harga produk akhir menjadi ekonomis. Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan pengamatan karakteristik produk dan efektivitas enkapsulasi bakteri pendegradasi HCN dalam upaya pemanfaatan daun singkong pahit sebagai ransum ternak ruminansia.

METODE PENELITIAN

Produksi Enkapsulasi Bakteri Pendegradasi Sianida

Bakteri pendegradasi sianida yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil dari penelitian Novita (2015), bakteri tersebut bersifat fakultatif anaerob dengan suhu tumbuh 39°C serta dapat mendegradasi HCN sebanyak 72,02 – 74,40%. berdasarkan hasil *alignment* pada data Gen Bank, diketahui bahwa bakteri tersebut memiliki 99% kemiripan dari *Sharpea azabuensis*, *Bovine rumen bacterium* dan *Lachnospiraceae bacterium*.

Kultur bakteri pendegradasi sianida yang digunakan untuk enkapsulasi terlebih dahulu ditumbuhkan pada media *brain heart infusion* (BHI) cair, terdiri dari BHI powder 3,7 g, glukosa 0,05 g, *starch* 0,05 g, *cystein* 0,1 g, hemin 0,5 ml, resazurin 0,05 ml, CMC 1% 1 ml. Semua bahan dimasukkan kedalam erlenmeyer 200 ml kecuali *cystein*, kemudian ditambahkan aquades hingga 100 ml. Campuran media dipanaskan sampai homogen hingga terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah dan berubah kembali menjadi kuning bening. Media yang telah didinginkan ditambahkan *cysteins* sambil dialiri gas CO₂, media dipindahkan kedalam tabung *hungate* sebanyak 8 ml per tabung sambil dialiri gas CO₂ kemudian disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Sambil dialiri gas CO₂ ditambahkan KCN 1 ml dan kultur bakteri pendegradasi sianida sebanyak 1 ml, pada tahap akhir dilakukan inkubasi selama 24 jam. Kultur bakteri pendegradasi sianida yang digunakan sebelum enkapsulasi sebesar $2,64 \times 10^8$.

Proses enkapsulasi dilakukan dengan modifikasi teknik enkapsulasi Krasaekoopt *et al.* (2003) bahan-bahan yang digunakan antara lain 25 ml larutan alginat 0,5% yang ditambahkan dengan 25 ml larutan pati 0,5%. kemudian larutan tersebut ditambahkan dengan 50 ml kultur bakteri pendegradasi sianida sambil dialiri gas CO₂. Setelah itu ditambahkan 50 ml minyak kanola yang mengandung lesitin 0,05 ml kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 20 menit. CaCl₂ 0,1 M ditambahkan secara perlahan melalui dinding erlenmeyer sebanyak 50 ml dan didiamkan selama 30 menit, untuk menjaga kontaminasi dengan lingkungan sehingga proses pemisahan dilakukan dalam *laminar air flow*. Hasil enkapsulasi dicuci dengan 0,9% larutan salin yang telah ditambahkan 5% gliserol, tahap akhir dalam proses enkapsulasi dengan penambahan susu skim hingga menjadi bubuk.

Uji Daya Simpan dan Karakteristik Enkapsulasi Bakteri Pendegradasi Sianida

Uji daya simpan dan karakteristik enkapsulasi bakteri pendegradasi sianida bertujuan untuk menganalisis umur simpan dan daya tahan probiotik yang telah diproteksi dengan teknik enkapsulasi sehingga diperoleh probiotik majemuk yang memiliki daya simpan yang tinggi serta dapat mencapai organ pencernaan, sehingga probiotik dapat bekerja secara optimal, sedangkan pada uji karakteristik enkapsulasi bakteri pendegradasi

sianida bertujuan untuk mengkarakterisasi produk enkapsulasi yang dihasilkan. Probiotik yang terenkapsulasi disimpan pada wadah penyimpanan pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}\text{C}$) selama 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21 dan 28 hari, kemudian ditentukan daya viabilitasnya dengan menghitung jumlah koloni dari masing-masing probiotik serta pengamatan warna dan tekstur produk enkapsulasi yang dihasilkan. Perhitungan populasi bakteri pendegradasi HCN mengikuti petunjuk Ogimoto dan Imai (1981) diambil sebanyak 1 g probiotik terenkapsulasi dan dilarutkan dalam 5 ml aquades dengan kondisi dialiri gas CO_2 . Media pengencer yang akan digunakan mengandung mineral yang dibutuhkan bakteri dan berada dalam kondisi anaerob. Masing-masing pengencer diambil 0,5 ml lalu diinkubasikan kedalam media agar BHI lalu dihomogenkan dengan menggunakan *rolltube* sehingga dapat memadat secara merata. Tabung yang telah diinokulasikan di dalam inkubator pada suhu 39°C selama 48 jam. Populasi bakteri pendegradasi sianida dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Populasi bakteri (CFU/g)} = \frac{n}{0,05 \times 10^x \times 0,1}$$

Keterangan :

n = jumlah koloni yang terdapat pada tabung seri pengenceran ke-x

Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat ulangan. Data yang diperoleh dianalisa dengan sidik ragam (ANOVA) menggunakan program SPSS 16.0, jika terdapat perbedaan yang signifikan maka akan dilakukan dengan uji *Duncan*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Produk Enkapsulasi Bakteri Pendegradasi Sianida

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan maka terjadi perubahan warna pada hasil enkapsulasi bakteri pendegradasi sianida, pada penyimpanan 0 sampai 7 hari berwarna kuning keabuan namun pada penyimpanan 14 sampai 28 hari terjadi perubahan warna menjadi krem (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik hasil enkapsulasi bakteri pendegradasi sianida dengan masa simpan yang berbeda

Hari penyimpanan ke-	Warna	Bentuk
0	Kuningkeabuan	berbutir dan gumpalan
7	Kuning keabuan	berbutir dan gumpalan kering
14	Krem	berbutir dan gumpalan kering
21	Krem	berbutir dan gumpalan kering
28	Krem	berbutir dan gumpalan kering

Warna pada enkapsulasi bakteri pendegradasi sianida dipengaruhi oleh warna dari susu skim yang digunakan dalam enkapsulasi, sesuai dengan hasil penelitian Palupi *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa hasil enkapsulasi cabai merah memiliki warna merah dari cabai merah yang digunakan. Hal tersebut dapat diartikan bahwa warna hasil enkapsulasi dipengaruhi oleh warna bahan yang digunakan pada saat enkapsulasi. Bentuk enkapsulasi pada tabel 1 terjadi perubahan bentuk selama masa penyimpanan.

Penyimpanan 0 hari berbentuk butiran dan gumpalan namun pada penyimpanan 7 sampai 28 hari berbentuk butiran dan gumpalan kering. Perubahan bentuk terjadi dikarenakan pada masa penyimpanan terjadi kehilangan air pada enkapsulasi bakteri pendegradasi sianida, lama penyimpanan berpengaruh terhadap berat dan diameter kapsul dikarenakan selama penyimpanan terjadi kehilangan air karena penguapan (Ngatirah dan Maria 2007).



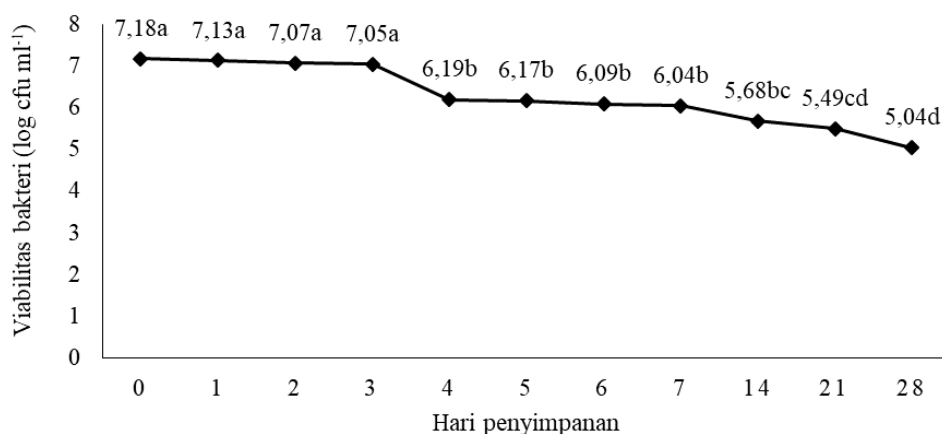
Gambar 1. Bentuk hasil enkapsulasi dengan masa simpan berbeda

Pada gambar 1 terlihat bentuk hasil enkapsulasi bakteri pendegradasi sianida pada penyimpanan 0 sampai 28 hari, permukaan dari hasil enkapsulasi dengan menggunakan penyalut susu skim terlihat berbutir-butir dan retak, semakin lama waktu penyimpanan semakin tampak jelas terlihat keretakan pada permukaan dari produk enkapsulasi bakteri yang dihasilkan. Menurut Lian *et al.* (2002), keretakan tersebut mungkin dikarenakan pelepasan panas dari dalam partikel setelah pengeringan sehingga menyebabkan kerusakan yang lebih terhadap mikroorganisme yang terperangkap didalamnya, hal tersebut sesuai dengan hasil uji viabilitas bakteri pendegradasi sianida yang diperoleh dari penelitian ini (gambar 2) yang menunjukkan penurunan jumlah populasi bakteri pendegradasi sianida seiring dengan semakin lamanya waktu penyimpanan.

Viabilitas Bakteri Pendegradasi Sianida yang Telah Dienkapsulasi

Hasil viabilitas inokulasi bakteri pendegradasi sianida yang telah dienkapsulasi serta dilakukan pengamatan 0 hingga 28 hari signifikan menurunkan jumlah populasi bakteri pendegradasi sianida (Gambar 2). Terjadinya penurunan secara signifikan pada 3 hingga 7 hari begitupun pada 7 hingga 21 hari penyimpanan pada suhu ruang $\pm 27^{\circ}\text{C}$. Gambar 2 menunjukkan bahwa penurunan jumlah populasi bakteri pendegradasi sianida hingga 20%, serta viabilitas bakteri pada penyimpanan 0 sampai 3 hari menunjukkan hasil yang relatif sama berkisar antara 7,18 hingga 7,05 cfu ml⁻¹ namun terjadi penurunan pada penyimpanan 4 sampai 7 hari berkisar antara 6,19 hingga 6,04 cfu ml⁻¹ begitupun pada penyimpanan 14 sampai 28 hari berkisar antara 5,68 hingga 5,04 cfu ml⁻¹.

Tren viabilitas bakteri terenkapsulasi selama proses penyimpanan dalam suhu kamar semakin menurun hingga hari ke-42 (Pradipta 2017). Penurunan jumlah populasi bakteri tersebut dikarenakan bakteri mengalami stress akibat perubahan lingkungan secara tiba-tiba pada saat proses enkapsulasi yang dilakukan. Sumanti *et al.* (2016) menyatakan bahwa penurunan viabilitas sel disebabkan oleh proses pengeringan yang menyebabkan sel kehilangan kestabilannya serta terjadinya *shock osmotik* dengan kerusakan membran dan perpindahan ikatan hidrogen yang berpengaruh terhadap sifat-sifat makromolekul hidrofilik dalam sel.



Gambar 2. Viabilitas bakteri pendegradasi sianida yang telah dienkapsulasi

Viabilitas bakteri pendegradasi sianida masih cukup tinggi hingga penyimpanan 28 hari yakni 5,04 cfu ml⁻¹, hal tersebut dikarenakan proteksi sel dengan menggunakan teknik enkapsulasi modifikasi Krasaekoopt *et al.* (2002) dalam prosesnya menggunakan gas CO₂ dan tidak terdapat proses pengeringan, hal tersebut dikarenakan bakteri pendegradasi sianida merupakan jenis bakteri anaerob. Selain itu, pada proses enkapsulasi yang dilakukan menggunakan minyak kanola yang dapat menjaga kondisi inokulasi bakteri pendegradasi sianida yang dienkapsulasi tetap lembab sehingga memungkinkan untuk mempertahankan viabilitas sel. Namun pada Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan pada suhu ruang mengakibatkan adanya celah pada membran yang menyebabkan oksigen masuk dan mengganggu aktivitas metabolisme sel sehingga dapat menurunkan viabilitas inokulasi bakteri pendegradasi sianida. Kontak oksigen pada kultur yang disimpan dapat menyebabkan kehilangan aktivitas yang ditandai dengan penurunan cairan membran sel (Borst *et al.*, 2000; Santivarangkna *et al.*, 2008).

Tabel 2. Viabilitas bakteri pendegradasi sianida terenkapsulasi dengan masa simpan per minggu

Minggu ke	Viabilitas bakteri (Log cfu ml ⁻¹)
0	7,18 ± 0,42 ^a
1	6,04 ± 0,21 ^b
2	5,68 ± 0,23 ^{bc}
3	5,49 ± 0,34 ^c
4	5,03 ± 0,16 ^d
Rataan	5,89±0.11

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

KESIMPULAN

Hasil enkapsulasi bakteri pendegradasi sianida dapat mempertahankan bakteri pendegradasi sianida dalam suhu penyimpanan ± 27°C, namun terjadi penurunan jumlah populasi bakteri pendegradasi sianida selama masa penyimpanan. Karakteristik produk hasil enkapsulasi berwarna kuning keabuan dan krem serta berbentuk berbutir dan gumpalan.

DAFTAR PUSTAKA

- Borst JW, Visser NV, Kouptsova O & Visser AJWG. 2000. Oxidation of unsaturated phospholipids in membrane bilayer mixtures is accompanied by membrane fluidity changes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 14: 61-73.
- Dehority AB. 2004. Rumen Microbiology. Nottingham University Press. Nottingham.
- Erdiandini I, Sunarti TC & Meryandini A. 2015. Seleksi bakteri asam laktat dan pemanfaatannya sebagai *starter* kering menggunakan matriks tapioka asam. *Jurnal Sumberdaya Hayati*. 1(1): 26-33.
- Krasaekoopt W, Bhandari B & Deeth H. 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*. 13: 3-13.
- Lian WC, Hsio HC & Chou CC. 2002. Survival of Bifidobacterium longum after spray drying. *Int J Food Microbiol*. 74: 79-86.
- Morgan CA, Herman N, White PA & Vesey G. 2006. Preservation of micro-organisms by drying; a review. *Journal Microbiol Methods*. 66: 183-193.
- Nazzaro F, Orlando P, Fratianni F & Coppola R. 2012. Microencapsulation in food science and biotechnology. *Curr Opinion Biotechnol*. 23: 182-186.
- Ngatirah & Maria U. 2007. Pengaruh penyimpanan terhadap viabilitas bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dalam biokapsul alginat. *Agteknose*. 3(2):16-22.
- Novita M. 2015. Isolasi, identifikasi, dan karakterisasi serta inokulasi bakteri pendegradasi sianida dari cairan rumen kambing peranakan etawa secara *in vitro* [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Nurlaily RF. 2017. Karakteristik fermentasi dan populasi mikroba rumen domba yang diinokulasi bakteri pendegradasi HCN serta sulfur pada pakan mengandung daun singkong pahit (*Manihot glaziovii*) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Ogimoto K & Imai S. 1981. Atlas of Rumen Microbiology. *Jap. Sci. Soc. Press*, Tokyo.
- Oktafiani H. 2017. Performa dan pencernaan nutrisi pada domba yang diberi tepung daun singkong pahit (*Manihot esculenta*) dan bakteri pendegradasi HCN [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Pasifico CJ, Wu W & Fraley M. 2001. Sensitivesubstance encapsulation. US Patent 6 251 478.
- Palupi NW, Pandu KJS & Sih Y. 2014. Enkapsulasi cabai merah dengan teknik *coacervation* menggunakan alginat yang disubstitusi dengan tapioka terfotooksidasi. *Jurnal Aplikasi Pangan*. 3(3):87-93.
- Peighambardoust SH, Tafti AG & Hesari J. 2011. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. *Trends Food Sci Technol*. 22: 215-224.
- Pradipta MSI. 2017. Pengaruh mikroenkapsulasi probiotik bakteri asam laktat indigenus unggas menggunakan bahan penyalut maltodekstrin terhadap viabilitas selama penyimpanan. *Journal of livestock science and produksi*. 1(1):37-43.
- Santivarangkna C, Kulozik U & Foerst P. 2008. Inactivation Mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes. *J Appl Microbiol*. 105: 1-13.
- Sumanti DM, Lanti I, Hanidah II, Sukarminah E, Giovanni A. 2016. Pengaruh konsentrasi susu skim dan maltodekstrin sebagai penyalut terhadap viabilitas dan karakteristik mikroenkapsulasi suspensi bakteri *Lactobacillus plantarum* menggunakan metode *freeze drying*. *Jurnal Penelitian Pangan*. 1(1):7-13.