

## Additional Effect Of Soybean Waste Probiotic And Palm Kernel Fermented With *Aspergillus Niger* (Akbis Prob) On The Growth Of Boiler Bone

Nurliana<sup>1</sup>, Aprilia Tanjung<sup>2</sup>, Mustafa Sabri<sup>3</sup>, Dian Masyitah<sup>4</sup>, Muhammad Jalaluddin<sup>3</sup>, Rastina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>2</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>3</sup>Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>4</sup>Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: [nunayafiq@yahoo.com](mailto:nunayafiq@yahoo.com)

### ABSTRACT

*This study aimed to determine the bone growth of broiler chickens fed with additional probiotic *Aspergillus niger* (AKBIS Prob). The organ taken was the femur bone. A total of 24 broiler chickens reared with additional feed on 4 treatments and 3 repetitions with a combination of additional feed namely P0 (commercial feed), P1 (commercial feed and 2% AKBIS Prob), P2 (commercial feed and 4% AKBIS Prob) and P3 (commercial feed and 6% AKBIS Prob). The sampling of the femur bone was carried out on chicken 21 and 35 days old and observed histologically after stained with hematoxylin-eosin (HE). The results showed from the examination of macroscopic growth that the femur growth increased more at the age of 35 days compared to the age of 21 days in the treatment group P1, P2 and P3 who were given probiotic *Aspergillus niger* (AKBIS Prob) where the amount of Ca and P required for growth can be fulfilled. On microscopic examination, the measurement parameters were the number of active osteoblasts and osteoblast that looked more passive on the 35th day of treatment, compared to the age of 21 days. While the number of osteoclasts was more at age 21 than at age of 35 days in the treatment group who were given probiotic *Aspergillus niger* (AKBIS Prob) as additional food.*

**Key words:** broilers, probiotics, *Aspergillus niger*, bone, osteoblasts, osteoclasts

### PENDAHULUAN

Ayam broiler merupakan hewan yang sangat cepat pertumbuhannya, namun pembentukan tulang tidak secepat dengan pertumbuhan dagingnya sehingga sering terjadi abnormalitas pada tulang, khususnya tulang tibia dan tarsumetatarsus (Fadilah dan Polana, 2004)

Pertumbuhan adalah proses pertambahan ukuran yang tidak dapat kembali ke asal (irreversibel), yang meliputi pertambahan volume dan pertambahan massa. Selain disebabkan pertambahan ukuran sel, pertumbuhan juga terjadi karena pertambahan jumlah sel. Pertumbuhan tulang yang seimbang dengan penambahan masa tubuh merupakan hal sangat penting dalam peternakan unggas. Pertumbuhan tulang pada ayam pedaging berhubungan

langsung dengan berat tubuh dan pergerakan ayam tersebut. Setiap tahun 2-5% dari ayam *Broiler* memiliki masalah dengan sistem tulangnya dan akhirnya dapat menyebabkan kematian (Lawrence dkk., 2002).

Kalsium dan fosfor merupakan unsur yang sangat penting dalam pembentukan tulang. Pada anak ayam yang sedang pada masa pertumbuhan sebagian besar dari kalsium dalam ransum dipergunakan untuk pembentukan tulang (Wahju, 2004).

Penggunaan probiotik dalam ransum dapat menambah jumlah populasi mikroba yang menguntungkan bagi ayam boiler, mencegah berkembangnya mikroba yang merugikan dalam saluran pencernaan sehingga dapat meningkatkan pencernaan makanan, dengan demikian pemberian probiotik dapat mengefisienkan konsumsi pakan (Safingidkk., 2013). Selain itu, pakan

yang diserap dapat diolah lebih efisien menjadi daging. Hal ini terlihat dari pertumbuhan bobot ayam yang diberi probiotik lebih cepat.

Fermentasi merupakan proses perubahan bahan organik menjadi bentuk lain yang lebih berguna dengan bantuan mikroorganisme secara terkontrol. Proses fermentasi menggunakan mikroba yaitu *Aspergillus niger*. Menurut Yusak (2004), *Aspergillus niger* adalah salah satu mikroba yang memiliki kemampuan yang tinggi untuk menghasilkan enzim. *Aspergillus niger* dibandingkan kapang lainnya dapat menghasilkan enzim selulase khususnya  $\beta$ -glukosidase dalam jumlah tinggi dan memiliki pertumbuhan yang relative mudah diatur dan tidak menghasilkan mikotoksin sehingga tidak membahayakan ketika diberikan kepada broiler (Maryanti dkk., 2010).

Pemanfaatan limbah ampas kedelai dan bungkil inti sawit merupakan salah satu upaya mendukung zero waste (Yustina dan Abadi, 2012). Ampas kedelai dan bungkil inti sawit merupakan limbah pertanian yang tidak diolah kembali. Padahal ampas kedelai dan bungkil inti sawit mengandung nutrisi, serat kasar, dan air yang tinggi sehingga, jika difermentasi dengan *aspergillus niger* akan menjadi transmitter yang baik (Purwadira dkk., 1998).

## MATERI DAN METODE

### Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan, alat sterilisasi (autoclave), oven, alat penggiling makanan ternak, plastic tahan panas, cawan petri, tabung reaksi, spiritus, kandang individu, tempat pakan dan minum ayam.

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu ayam broiler, ampas kedelai, bungkil inti sawit, air, *Aspergillus*

*Niger*, air minum, formalin 10 %, asam nitrat 15%, alkohol, xilol, parafin blok, aquadest dan Hematoxylin-Eosin (HE). Penelitian ini menggunakan sampeltulang femur ayam broiler yang berumur 21 dan 35 hari. Sampel yang dibutuhkan untuk penelitian ini sebanyak 24 ekor.

### Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) factorial, yang terdiri dari empat perlakuan. Setiap perlakuan terdiri dari tiga ekor ayam sebagai ulangan.

### Prosedur Penelitian

#### Proses Fermentasi Ampas Kedelai dan Bungkil Inti Sawit dengan *Aspergillus Niger*

Ampas tahu dan bis (amtabis) yang telah distrilisasi menggunakan autoclave basah difermentasi dengan menggunakan jamur *Aspergillus niger* dengan perbandingan konsentrasi 8 gram jamur *A.niger* : 1 kg bahan (amtabis). Setelah dicampur rata kemudian disimpan pada kantong plastik hingga jamur *Aspergillus niger* menyelimuti ampas kedelai dan bungkil inti sawit (amtabis) kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 jam. Pada masa inkubasi 144 jam diambil bahan amtabis dicetak menjadi pelet selanjutnya dioven selama 45 menit pada suhu 80°C dan dibiarkan hingga dingin.

Menggunakan metode fermentasi yang dipakai oleh (Supriyati *et al.*, 1998) yang kemudian dimodifikasi oleh Nurliana (2013) dengan penambahan sterilisasi basah.

### Pemberian Pada Ayam

DOC broiler yang digunakan galur CP 707 unsexed sebanyak 100 ekor. Broiler

dipelihara selama 6 minggu. Kandang yang digunakan sebanyak 20 petak. Setiap petak kandang berukuran 60 x 80 cm yang dilengkapi dengan 1 buah tempat ransum, tempat minum, dan lampu pijar 40 watt yang berfungsi sebagai pemanas selama 15 hari dan sebagai penerang di malam hari. Ransum yang digunakan adalah ransum komersil 511 dan 512 produk PT Charoen Pokphand Indonesia. Ransum 511 diberikan saat DOC sampai umur 2 minggu dan ransum 512 diberikan pada umur 3 – 5 minggu. Setiap kelompok ayam perlakuan (selain satu kelompok kontrol = ekor yang tidak diberi pakan perlakuan P<sub>0</sub>), diberi pakan perlakuan dengan tingkat penggunaan (level) yaitu 2% (P<sub>1</sub>), 4% (P<sub>2</sub>), dan 6% (P<sub>3</sub>) dari total pakan.

Ayam dipelihara selama 5 minggu yang diberi pakan dan minum secara *ad libitum*. Pakan perlakuan untuk ayam umur 0-3 minggu (periode starter) dan untuk ayam umur 4-5 minggu (periode finisher) berbentuk pelet. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor ayam. Kelompok I sebagai kontrol diberikan pakan komersil sebanyak 100 gr/ekor/hari, kelompok II diberi pakan komersil 95 gr + AKBIS Prob (ampas kedelai + BIS yang difermentasi) sebanyak 2 gr/ekor/hari, kelompok III diberi pakan komersil 90 gr + AKBIS Prob (ampas kedelai + BIS yang difermentasi) sebanyak 10 gr/ekor/hari, kelompok IV diberi pakan komersil 85 gr + AKBIS Prob (ampas kedelai + BIS yang difermentasi) sebanyak 5 gr/ekor/hari.

### **Pembuatan preparat histologis tulang femur**

Ayam disembelih pada hari ke-21 dan hari ke-35, berdasarkan kelompok perlakuan dan diambil tulang femur. Untuk membuat preparat histologi, tulang femur yang telah difiksasi dengan larutan BNF selama 2x24 jam. Kemudian dilakukan proses

*dekalsifikasi* menggunakan asam nitrat 5% selama 4 minggu dan *stopping point* dalam alkohol 70% selama 12 jam, lalu dilakukan *dehidrasidengan* alkohol bertingkat 80%, 90%, 95%, dan alkohol absolut masing-masing selama 2 jam. Jaringan kemudian dijernihkan (*Clearing*) dalam cairan silol I, silol II, dan silol III masing-masing selama 45 menit. Selanjutnya jaringan diinfiltrasi dalam parafin cair I, parafin cair II, dan parafin cair III masing-masing selama 45 menit, kemudian dilakukan proses *embedding* dalam parafin blok. Jaringan di dalam blok parafin disayat dengan ketebalan 5 µm dan irisan diletakkan pada *tissue bath*, lalu diambil dengan *object glass* untuk selanjutnya diinkubasikan kedalam *slide warmer*.

### **Proses pewarnaan Hemaktosilin-Eosin (HE)**

Pewarnaan dimulai dengan proses deparafinisasi menggunakan silol I selama 5 menit dan silol II selama 2 menit. Kemudian dilanjutkan dengan proses rehidrasi dengan alkohol menurun dari alkohol absolut I dan II, alkohol 96% I dan II, alkohol 90% masing-masing selama 2 menit, selanjutnya dimasukkan kedalam air mengalir. Kemudian dimasukkan kedalam larutan hemaktosilin selama 5 menit, lalu dimasukkan kedalam air mengalir dan dimasukkan kedalam acid alkohol satu kali celup dan kemudian dimasukkan air. Setelah itu dimasukkan kedalam larutan eosin selama 5 menit. Kemudian dilakukan proses dehidrasi kembali dengan alkohol 96% I dan II, absolut I dan II masing masing dua kali celup. Setelah itu dilakukan proses *clearing* dengan silol I, II, dan III selama 3 menit. Lalu dilakukan *mounting* dengan Entellan. Preparat hasil pewarnaan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x untuk mengukur tingkat kepadatan pada tulang ayam.

**Analisis Data**

Data yang berpengaruh dianalisis varian dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) Rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Jika data berbeda antara perlakuan maka analisis dilanjutkan menggunakan uji Duncan.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Ukuran panjang tulang ayam broiler**

Pengukuran panjang tulang ayam broiler yang diberi pakan tambahan probiotik. Hasil pengukuran panjang tulang ditampilkan pada tabel 1.

**Tabel 1.** Panjang tulang femur-tibia pada berbagai kelompok perlakuan

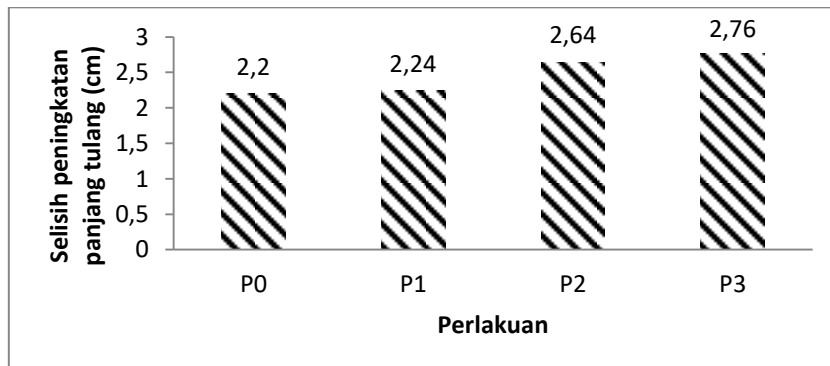
Lama pemberian probiotik	Panjang tulang femur-tibia (cm) pada berbagai perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
21 hari	13,33	13,43	13,53	13,67
35 hari	15,53	15,67	16,17	16,43

Keterangan : P0 (Komersil non AKBISprob), P1 (komersil + AKBISprob 2%), P2 (Komersil + AKBISprob 4%) dan P3 (Komersil + AKBISprob 6%).

Panjang tulang ayam pada hari ke-21 dan ke-35 berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ). Pertumbuhan tulang yang berbeda sangat nyata tersebut menunjukkan bahwa lama pemberian ransum yang mengandung AKBIS Prob sangat mempengaruhi pertumbuhan tulang, sedangkan dosis perlakuan tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap pertumbuhan tulang ayam broiler.

Panjang tulang ayam pada umur 21 hari dan 35 hari secara makroskopis dapat

dilihat berdasarkan aktifitas mineralisasi tulang femur dan tibia. Dari tabel 1 menunjukkan laju pertumbuhan panjang tulang sangat cepat pada saat umur 35 hari atau umur 5 minggu sebab semakin cepat pertumbuhan tulang tersebut akan semakin cepat menopang berat tubuhnya yang semakin bertambah tinggi. Hal ini dapat dilihat dari peningkatan panjang tulang pada gambar dibawah ini.



**Gambar 1.** Selisih pertumbuhan panjang tulang ayam broiler pada umur ke-21 dan ke-35 hari. P0 (Komersil non AKBIS Prob), P1 (komersil + AKBIS Prob 2%), P2 (Komersil + AKBIS Prob 4%) dan P3 (Komersil + AKBIS Prob 6%).

Pada gambar 1. terlihat bahwa selisih pertumbuhan tulang ayam broiler hari ke-21 dan hari ke-35 pada kelompok perlakuan P<sub>0</sub> dan P<sub>1</sub> memperlihatkan sedikit terjadi peningkatan pertumbuhan, sedangkan pada kelompok perlakuan P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub>, pertumbuhan tulang terlihat lebih meningkat. Menurut Jull (1977) rata-rata pertumbuhan tulang pada unggas cenderung naik pada umur 4-12 minggu.

Mineral dibutuhkan relatif kecil tetapi peranannya sangat penting, mineral dibutuhkan untuk pertumbuhan tulang-tulang terutama pada ayam broiler masa awal. Mineral juga banyak berperan dalam

fungsi fisiologis tubuh ayam. Mineral-mineral utama yang banyak dibutuhkan adalah kalsium (Ca), fosfor (P), sodium, potasium, magnesium dan klorin. Sedangkan mineral-mineral lainnya yang juga dibutuhkan adalah besi, mangan, copper, molibalin, zinc dan selenium (Rasyaf, 2008).

### Histologis massa tulang ayam broiler pada hari ke-21 dan hari ke-35

Hasil pemeriksaan tulang femur ayam yang diberi pakan tambahan probiotik *Asperillus niger* (AKBIS Prob) dapat dilihat pada tabel 2.

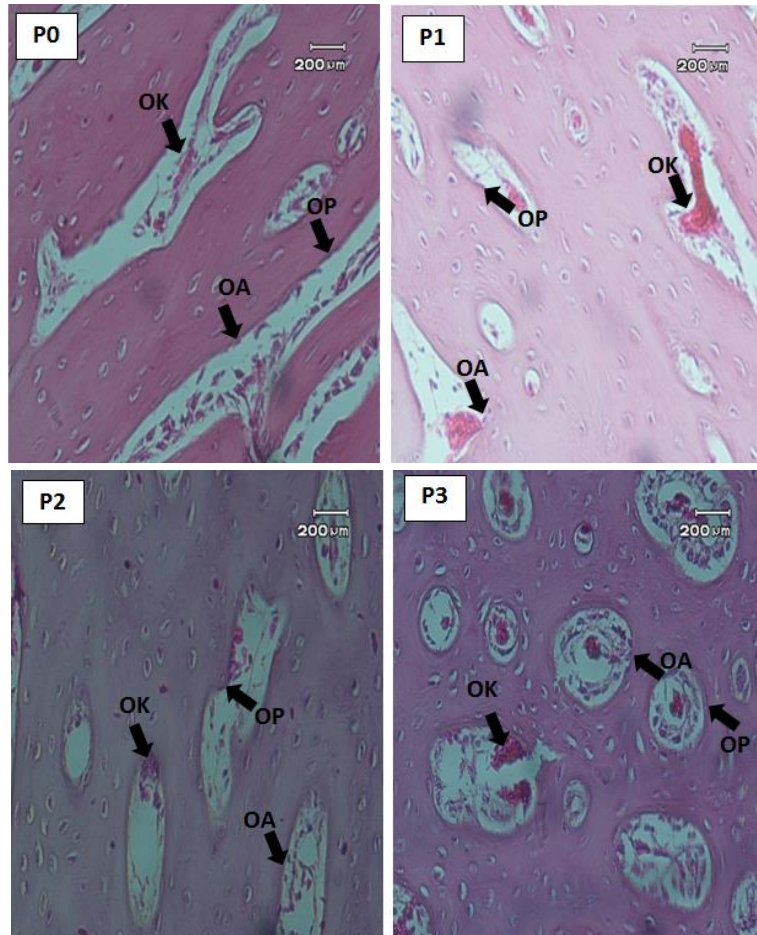
**Tabel 2** . osteoblas aktif, osteoblas pasif dan osteoklas. P<sub>0</sub> (Komersil non AKBIS Prob), P<sub>1</sub> (komersil + AKBIS Prob 2%), P<sub>2</sub> (Komersil + AKBIS Prob 4%) dan P<sub>3</sub> (Komersil + AKBIS Prob 6%).

Perlakuan	Osteoklas		Osteoblas Aktif		Osteoblas Pasif	
	21	35	21	35	21	35
P <sub>0</sub>	10,60	6,67	2,53	3,93	1,47	4,53
P <sub>1</sub>	11,40	3,93	2,40	5,33	2,20	3,13
P <sub>2</sub>	2,87	2,93	2,60	4,53	1,33	2,80
P <sub>3</sub>	3,87	3,27	3,93	2,93	1,47	1,93

Keterangan : <2-3 = sedikit, 4-6 = sedang, 7-9 = banyak, >9 = sangat banyak.

Berdasarkan pengamatan secara histopatologi dihari ke-21 menunjukkan bahwa jumlah osteoklas, pada perlakuan P<sub>2</sub> sedikit, P<sub>3</sub> sedang dan P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub> sangat banyak, sedangkan pada hari ke-35 perlakuan P<sub>1</sub> terlihat sedang. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa jumlah osteoklas tidak berpengaruh nyata ( $P > 0.05$ ) antar perlakuan.

Pada perlakuan P<sub>0</sub> sel osteoklas terlihat sangat banyak ditepi trabekula, beberapa sel osteoklas terlihat memfagosit trabekula sehingga menyebabkan struktur trabekula yang menipis dan membentuk rongga sumsum tulang yang lebar (Gambar 2).

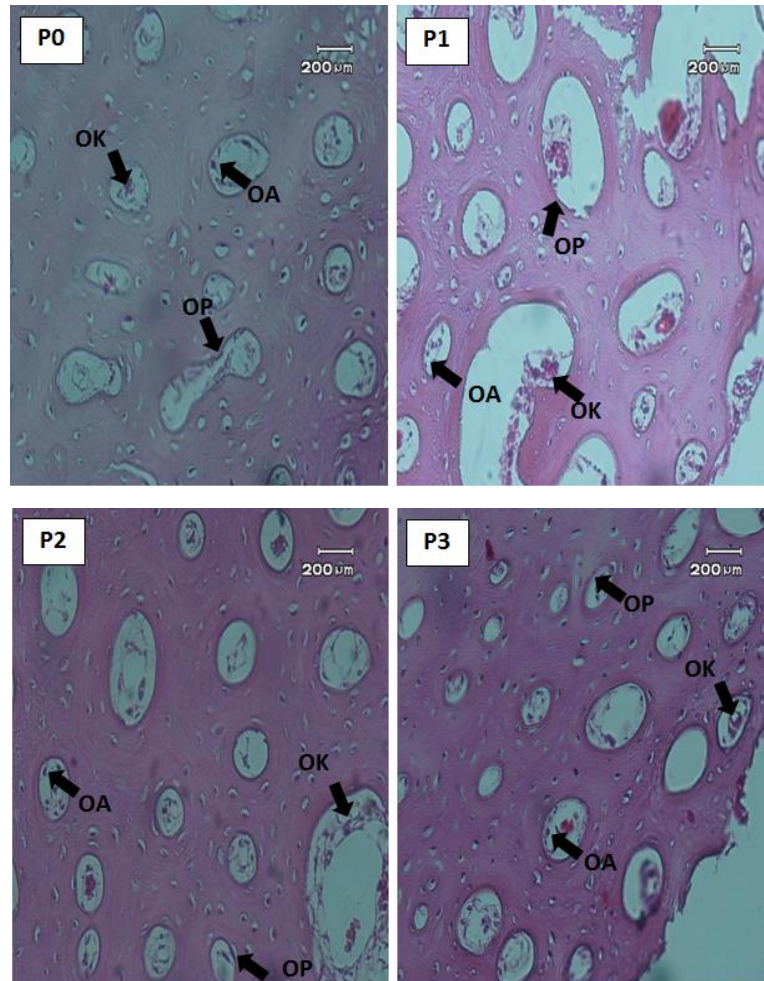


Keterangan : Mikroskopis tulang ayam broiler pada umur 21 hari dengan pewarnaan HE .(A) P0 (Komersil non AKBISprob) . (B) P1 (komersil + AKBISprob 2%). (C) P2 (Komersil + AKBISprob 4%). (D) P3 (Komersil + AKBISprob 6%). Osteoklas (OK), Osteoblas Aktif (OA), Osteoblas Pasif (OP).

### Osteoblas aktif

Osteoblas adalah sel-sel pembentuk tulang yang berasal dari precursor sel stroma di sumsum tulang (Ganong, 2003). Pada hari ke-35 terlihat bahwa kelompok perlakuan P1 osteoblast aktif terlihat banyak ditepi trabekula. Pada kelompok perlakuan P1 juga memperlihatkan adanya osteoblas pasif yang sedikit dibandingkan dengan kelompok

perlakuan P0, P2 dan P3. Sebaliknya, pada hari ke-21 kelompok P1 osteoblas aktif terlihat sedikit pada tepi trabekula. Pada ayam kelompok P1 memperlihatkan adanya peningkatan osteoblas pasif yang lebih dibandingkan dengan kelompok ayam perlakuan P0, P2 dan P3. Hal ini dapat dilihat dari gambaran mikroskopis pada hari ke-35 pada gambar 3.



Keterangan : Mikroskopis tulang ayam broiler pada umur 35 hari dengan pewarnaan HE . (A) P0 (Komersil non AKBISprob) . (B) P1 (komersil + AKBISprob 2%). (C) P2 (Komersil + AKBISprob 4%). (D) P3 (Komersil + AKBISprob 6%). Osteoklas(OK), Osteoblas Aktif(OA), Osteoblas Pasif (OP).

**Osteoblas Pasif**

Osteoblas berbentuk koboid pada saat aktif dan berbentuk pipih pada saat tidak aktif (Franz-Odendaal dkk., 2006). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian pakan tambahan probiotik pada ayam yang berumur 21 hari perlakuan P1 terlihat sedikit dibandingkan pada hari ke-35. Sedangkan pada hari ke-35 perlakuan P0 osteoblas pasif terlihat sedang. Pada umur ke 35 hari, terlihat bahwa perlakuan P0 mampu mencegah sel osteoklas yang meresorpsi

tulang sehingga sel osteoblas pipih pada kelompok tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok P1,P2 dan P3.

**KESIMPULAN**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pemeriksaan makroskopis pertumbuhan tulang femur terjadi peningkatan yang lebih pada umur 35 hari dan pada pemeriksaan mikroskopis jumlah osteoblas aktif dan osteoblas pasif terlihat lebih banyak pada hari ke-35 perlakuan ,

dibandingkan umur 21 hari . Sedangkan jumlah osteoklas terlihat lebih banyak pada umur 21 dibandingkan pada umur 35 hari pada kelompok perlakuan yang diberi pakan tambahan probiotik *Aspergillus niger* (AKBIS Prob) .

### DAFTAR PUSTAKA

- Fadilah, R. dan A. Polana. 2004. **Aneka Penyakit pada Ayam dan Cara Mengatasinya**. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Franz-Odenaal, T.A., B.K. Hall, and P.E. Witten. 2006. Buried alive: How osteoblasts become osteocytes. **Developmental Dynamics**. 235:176-190.
- Ganong , W.F. 2003. **Buku Ajar Fisiologi Kedokteran**. Edisi 14. Terjemahan Petrus Andriato dari "Review Of Medical Physiology". Jakarta: EGC. Hal 366-377
- Jull, M.A. 1977. **Poultry Husbandry**. 3<sup>rd</sup> Ed. McGraw Hill Book Company, New York.
- Lawrence, T.L.J. and V.R. Fowler. 2002. **Nd Growth of Farm Animals**. 2Ed. CABI Publishing, London.
- Maryanti, Y.H., Pristianti dan P.Ruliawati. 2010. Produksi crude lipase dari *Aspergillus niger* pada substratongok menggunakan metode fermentasi fase padat. **Seminar Rekayasa Kimia dan Proses**. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Nurliana, W. Sitti, dan M. Dian. 2013. Pemberian ampas kedelai dan serat buah sawit yang difermentasi *Aspergillus niger* dalam pakan untuk peningkatan produktivitas ayam petelur. **Laporan Penelitian**. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Purwadaria, T., A.P. Sinurat, T. Haryati, I. Sutikno, Supriyati, dan J. Darma. 1998. Korelasi antara aktivitas enzim mananase dan selulase terhadap kadar serat lumpur sawit hasil fermentasi dengan *Aspergillus niger*. **Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner**.4(3):230-235.
- Rasyaf, M. 2008. **Beternak Ayam Pedaging**. Cetakan XXII. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Safingi, A. Mufti. M dan Iriyanti. 2013. Penggunaan berbagai jenis probiotik dalam ransum ayam arab terhadap konsumsi pakan dan *Income over feed cost*. **Jurnal Ilmiah Peternakan**. 3(1):970-975.
- Supriyati., T. Pasaribu, H. Hamit, dan A. Sinurat. 1998. Fermentasi bungkil inti sawit secara substrat padat dengan menggunakan *Aspergillus niger*. **Jurnal Ilmu Ternakdan Veteriner**. 3(3):165.
- Wahju, J. 2004. **Ilmu Nutrisi Unggas**. Cetakan ke-6. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Yusak, Y. 2004. Pengaruh suhu dan pH *Bufer Asetat* terhadap hidrolisa CMC oleh enzim selulase dari ekstrak *Aspergillus Niger* dalam media campur onggok dan dedak. **Jurnal Sains Kimia**. 8(2): 35-37.
- Yustina, I dan F.R. Abadi. 2012. Potensi tepung dari ampas industry pengolahan kedelai sebagai bahan pangan. **Seminar Nasional : Kedaulatan Pangan dan Energi**. Madura: 1-9.