

Penapaian fasa-pepejal: Penggunaan bakteria asid laktik dalam pembuatan silaj akasia

(Solid-phase fermentation: The usage of lactic acid bacteria in acacia silage)

Nasyatul Ekma Mohd Hussin, Marini Ahmad Marzuki, Mohd Rosly Shaari, Nor Idayusni Yunus dan Siti Masidayu Mat Saad

Pengenalan

Proses penapaian merupakan salah satu kaedah pengawetan makanan yang paling lama wujud di dunia. Proses ini berlaku apabila mikrob seperti bakteria asid laktik (LAB) menggunakan bahan makanan sebagai substrat untuk membiak. Penapaian menggunakan inokulan LAB juga dilihat mampu untuk meningkatkan nilai nutrisi dan kadar pencernaan makanan tersebut. Keadaan berasid yang terhasil daripada proses penapaian dikatakan akan meningkatkan aktiviti enzim mikrob seperti enzim amilase, protease, fitase dan lipase pada julat suhu 22 – 25 °C yang akan menukarkan bahan makanan melalui hidrolisis sebatian polisakarida, protein, fitate dan lipid. Selain kebolehannya untuk meningkatkan aktiviti enzim, ia juga mempunyai keupayaan untuk mengurangkan kandungan komponen antinutrisi seperti asid fitik dan tanin seterusnya meningkatkan kebolehdapatan mineral, protein dan gula.

Bakteria asid laktik sering digunakan dalam pelbagai industri dan telah memainkan peranan yang penting dalam proses pengawetan foraj segar untuk dijadikan sebagai makanan ternakan (silaj). LAB juga termasuk dalam kategori GRAS iaitu organisma yang diketahui umum selamat untuk digunakan dan turut diiktiraf oleh *Food and Drug Administration* (FDA) di USA sebagai selamat untuk digunakan dalam perubatan dan veterinar.

Silaj inokulan

Silaj merupakan salah satu bentuk pengawetan makanan yang penting bagi mengekalkan kualiti foraj. Walaupun proses penapaian silaj berlaku secara semula jadi oleh bakteria yang sedia ada wujud pada tumbuhan, kadar kecekapan dan kepantasan penapaian (pengurangan pH) mungkin berubah-ubah, tertakluk kepada jenis dan jumlah bakteria asid laktik. Bakteria ini akan menukarkan karbohidrat serap air kepada asid organik (terutamanya asid laktik). Bakteria asid laktik terbahagi kepada dua jenis iaitu penapaian homofermentatif yang hanya menghasilkan asid laktik dan juga penapaian heterofermentatif yang bukan sahaja menghasilkan asid laktik, malah turut menghasilkan asid asetik, etanol dan karbon dioksida. Antara kesemua jenis LAB tersebut, spesies

homofermentatif adalah yang paling kerap digunakan. Spesies ini termasuklah *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* dan *Pediococcus* spp. Kadar inokulasi yang dicadangkan untuk digunakan adalah sebanyak $10^5 - 10^6$ sel hidup untuk setiap gram tumbuhan.

Penggunaan spesies bakteria untuk proses penapaian homofermentatif dalam pembuatan silaj menghasilkan lebih banyak tenaga berbanding dengan penggunaan spesies bakteria untuk proses penapaian heterofermentatif. Ini kerana semasa proses penapaian homofermentatif, setiap molekul glukosa yang terdapat dalam foraj akan menghasilkan dua molekul asid laktik tanpa ada penghasilan gas. Manakala dalam proses penapaian heterofermentatif, gas karbon dioksida yang terhasil akan keluar dan menyebabkan berat kering foraj semakin berkurang. Oleh itu, penggunaan bakteria untuk proses penapaian homofermentatif bukan sahaja dapat mengekalkan berat kering foraj malah kehilangan tenaga melalui proses penapaian juga menjadi lebih rendah. Oleh kerana asid laktik merupakan asid kuat berbanding dengan asid yang lain, maka nilai pH silaj akan turun dengan lebih cepat. Dengan ini, pertumbuhan mikroorganisma patogen yang akan menyebabkan silaj rosak dapat direncatkan. Bacteria untuk proses penapaian homofermentatif juga sesuai digunakan sebagai inokulan untuk menghasilkan silaj daripada tumbuhan kekacang.

Asid laktik

Asid laktik telah diperkenalkan buat pertama kalinya seawal tahun 1780 dan merupakan bahan yang menghasilkan rasa masam dalam susu. Asid ini terdiri daripada tiga karbon asid organik yang wujud dalam dua bentuk isomer iaitu isomer-D dan isomer-L. Ciri-ciri asid laktik adalah seperti dalam *Jadual 1*. Asid ini boleh larut dalam air, tetapi tidak dalam larutan organik. Organisma yang menghasilkan asid laktik-D atau -L mempunyai dua enzim *lactate dehydrogenase* yang berbeza bentuk stereospesifiti. Sesetengah spesies *Lactobacilli* yang menghasilkan asid laktik-L mampu untuk mengubah

Jadual 1. Ciri fizikal asid laktik

Berat molekul	90.08
Takat lebur	16.8 °C
Takat didih	82 °C pada 0.5 mm Hg 122 °C pada 14 mm Hg
Pemalar pemisahan, K_a pada 25 °C	1.37×10^{-4}
Haba pembakaran	1,361 KJ/mol
Haba tentu, C_p pada 20 °C	190 J/mol/°C

bentuk asid laktik-L kepada -D apabila penghasilannya terlalu banyak. Pengubahan ini akan berlaku sehingga keseimbangan diperoleh.

Asid laktik digunakan sebagai asidulan, bahan perasa, agen penimbalan pH atau sebagai penghalang bakteria perosak dalam pelbagai makanan terproses.

Silaj akasia sebagai sumber makanan ternakan

Acacia mangium merupakan salah satu daripada spesies tumbuhan hutan utama yang ditanam di Malaysia. Terdapat lebih daripada 64 ribu hektar pokok akasia telah ditanam di Semenanjung Malaysia dan kebanyakannya terdapat di negeri Johor, Pahang, Selangor dan Negeri Sembilan. Ia juga merupakan sejenis tumbuhan kekacang yang mengandungi protein kasar yang tinggi dan dipercayai sesuai untuk dijadikan sebagai makanan ternakan ruminan. Namun begitu, kehadiran tanin yang tinggi di dalam tumbuhan ini menyebabkan kuantiti yang boleh digunakan oleh ternakan ruminan menjadi terhad.

Kumpulan polifenolik yang terdapat dalam struktur tanin menyebabkan ia mampu membentuk ikatan yang kuat bersama komponen nutrisi lain seperti protein, karbohidrat, mineral dan sebagainya. Keadaan ini menyebabkan protein yang terkandung di dalam daun tidak dapat dicerna, diserap dan digunakan oleh ternakan ruminan untuk pembesaran. Namun begitu, kesan ini berbeza bergantung kepada jenis tanin, jenis tumbuhan dan jenis haiwan ruminan tersebut.

Bagi mengoptimalkan penggunaan bahan makanan tempatan untuk kegunaan ruminan, spesies LAB telah dipencilkan (*isolated*) daripada rumen lembu tempatan (baka Kedah-Kelantan) dan spesies bakteria telah dikenal pasti melalui kaedah fenotipik dan genotipik. Sebanyak enam spesies bakteria yang boleh menghasilkan asid laktik telah dikenal pasti dan kesemua spesies juga didapati mempunyai kemampuan untuk mengurai tanin. Spesies dan jenis asid laktik yang terhasil adalah seperti dalam *Jadual 2*. Keadaan berasid dalam medium setiap jenis bakteria telah ditunjukkan

Jadual 2. Spesies bakteria asid laktik yang dipencil daripada rumen lembu baka Kedah-Kelantan berserta jenis asid laktik dan jumlah pengurangan tanin tersejat (CT)

Spesies bakteria	Jenis asid laktik		Jumlah asid laktik (g/L)	Pengurangan CT (%)	pH
	L- (g/L)	D- (g/L)			
<i>Enterococcus hirae</i>	2.73	0.02	2.75	30.56	4.37
<i>Enterococcus viikiensis</i>	1.91	3.18	5.08	26.11	4.11
<i>Lactobacillus fermentum</i>	1.91	4.11	6.02	29.26	4.22
<i>Lactobacillus plantarum</i>	2.95	4.08	7.03	30.40	3.57
<i>Pediococcus acidilactici</i>	2.44	3.67	6.11	28.93	4.27
<i>Weissella cibaria</i>	2.50	3.51	6.00	35.40	4.32

melalui bacaan pH yang mana nilai tersebut berada antara 3.57 dan 4.37. Kit pencerakinan asid laktik telah digunakan bagi mengenal pasti kehadiran asid laktik. Daripada jadual yang sama, didapati kesemua spesies bakteria juga mampu untuk mengurangkan kandungan tanin tersejat (CT), terutamanya spesies *Weissella* yang dilihat telah memberikan peratus penurunan yang terbanyak. Kesemua bakteria tersebut telah dicampurkan bersama dan digunakan sebagai inokulan dalam pembuatan silaj akasia. Butiran lengkap adalah seperti dalam *Jadual 3*.

Selain daripada menggunakan LAB sebagai inokulan silaj akasia untuk melihat kandungan nutrisi, jumlah kandungan tanin yang masih ada dalam akasia juga dikira dalam kajian ini. Daripada *Jadual 3*, didapati kandungan tanin dalam silaj akasia berkurang berbanding dengan kawalan (daun akasia segar). Dalam silaj kawalan, iaitu silaj tanpa sebarang bahan tambahan, mampu untuk mengurangkan kandungan tanin daripada 3.25% (dalam daun segar) kepada 2.45% dalam masa enam minggu tempoh penapaian. Namun begitu, berbeza dengan silaj akasia yang telah ditambah inokulan (LAB), kandungan tanin yang dikira setelah dua minggu tempoh

Jadual 3. Nilai nutrisi dan kandungan tanin tersejat (CT) silaj akasia yang dicampur dengan bakteria asid laktik, dibanding dengan daun akasia segar dan silaj akasia tanpa rawatan

	Daun akasia (segar)	Silaj kawalan (enam minggu)	Silaj LAB terawat (enam minggu)	Silaj LAB terawat (dua minggu)
pH silaj	–	5.31	4.54	4.46
Tenaga				
TDN (%)	63.03	61.37	62.82	64.36
ME (%)	9.49	9.21	9.45	9.70
Serat				
ADF (%)	38.65	42.85	39.41	45.97
NDF (%)	64.37	59.62	57.52	64.64
ADL (%)	26.94	28.84	23.76	33.71
Hemiselulosa(%)	25.72	16.77	18.11	18.67
Selulosa (%)	11.72	14.01	15.66	12.26
Proksimat				
ASH (%)	4.64	3.61	3.92	2.56
CF (%)	27.10	30.07	28.87	25.24
CP (%)	17.09	15.53	16.70	16.02
DM (%)	36.31	32.18	32.22	35.43
EE (%)	2.47	2.75	3.34	2.27
NFE (%)	48.69	48.04	47.17	53.91
Tanin tersejat, CT (%)	3.25	2.45	1.94	2.08

(Gambar 1) penapaian mencatat jumlah sebanyak 2.08% dan setelah enam minggu tempoh penapaian, jumlah tanin dapat dikurangkan kepada 1.94%, iaitu lebih kurang 40% telah dikurangkan daripada jumlah tanin dalam daun akasia segar.

Kehadiran tanin tersejat akan menghasilkan kompleks tanin-protein di dalam rumen dan seterusnya akan menyebabkan protein tidak dapat diguna oleh mikrob di dalam rumen dan penyerapan oleh ruminan juga akan berkurang. Namun pada dos yang tertentu, ia bagus untuk meningkatkan prestasi tumbesaran haiwan, yang mana penguraian protein oleh mikrob yang berkurangan di dalam rumen akan meningkatkan pergerakan asid amino ke dalam usus untuk penyerapan. Oleh yang demikian, adalah dicadangkan untuk mengurangkan kandungan tanin di dalam makanan ternakan berbanding dengan mengurai atau membuang tanin secara keseluruhannya.

Selain pengurangan tanin di dalam silaj akasia (dua minggu dan enam minggu), hanya kandungan hemiselulosa sahaja yang dilihat berkurangan dengan banyak. Kandungan protein kasar, serat kasar, nilai tenaga dan berat kering silaj masih kekal seperti dalam sampel segar. Nilai pH silaj juga dilihat telah turun sejak tempoh penapaian dua minggu.

Selain menggunakan inokulan bakteria dalam proses penapaian silaj, polietilena glikol (PEG) juga digunakan dalam kajian lain untuk mengurangkan kandungan tanin dalam sampel makanan. Namun begitu, PEG merupakan bahan sintetik yang diproses untuk kegunaan komersial. Oleh yang demikian, penggunaan LAB adalah digalakkan memandangkan ia adalah bakteria baik yang boleh dijumpai secara semula jadi (daripada rumen lembu) dan juga telah diiktiraf sebagai selamat digunakan (GRAS) oleh FDA (USA).



RAN: Silaj akasia yang ditambah inokulan LAB (berwarna lebih keemasan)
C: Silaj akasia tanpa inokulan (masih berwarna hijau)

Gambar 1. Silaj akasia selepas dua minggu tempoh penapaian

Kesimpulan

Hasil kajian ini menunjukkan spesies bakteri asid laktik yang dipencilkan daripada lembu Kedah-Kelantan tempatan ini mampu untuk mengurangkan kandungan tanin tersejat (CT) dalam daun *Acacia mangium* di samping mengekalkan kandungan protein, serat kasar dan tenaga dalam silaj akasia. Spesies LAB merupakan spesies bakteri daripada kumpulan penapaian homofermentatif yang mana hanya asid laktik dihasilkan, justeru kehilangan berat kering sampel dapat dielakkan. Walaupun dalam tempoh dua minggu pH dalam silaj akasia terawat telah turun kepada 4.46, namun begitu, kadar penurunan CT adalah lebih tinggi pada usia silaj enam minggu, yang mana sebanyak 40% CT telah dikurangkan. Secara keseluruhannya, data yang dikumpulkan menunjukkan bahawa penggunaan bakteri asid laktik ini boleh digunakan sebagai inokulan dalam pembuatan silaj bagi tumbuhan yang tinggi tanin dan juga foraj yang berkualiti rendah.

Bibliografi

- Ananou, S., Maqueda, M., Martinez-Bueno, M. dan Valdivia, E. (2007). Biopreservation. An ecological approach to improve the safety and shelf-life of foods. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*: 475 – 486
- Lee, S.S. (2004). Disease and potential threats to *Acacia mangium* plantations in Malaysia. *Unasyloa* 217(55): 31 – 35
- Narayanan, N., Roychoudhury, P.K. dan Srivastava, A. (2004). L(+) lactic acid fermentation and its product polymerization. *Electronic Journal of Biotechnology* 7(2): 167 – 179
- Niezen, J.H., Waghorn, T.S., Charleston, W.A.G. dan Waghorn, G.C. (1995). Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either lucerne (*Medicago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) which contains condensed tannins. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 125: 281 – 289
- Oliveira, A.S., Weinberg, Z.G., Ogunade, I.M., Cervantes, A.A.P., Arriola, K.G., Jiang, Y., Kim, D., Li, X., Goncalves, M.C.M., Vyas, D. dan Adesogan, A.T. (2017). Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 100(6): 4,587 – 4,603
- Weinberg1, Z.G., Muck, R.E. dan Weimer, P.J. (2003). The survival of silage inoculant lactic acid bacteria in rumen fluid. *Journal of Applied Microbiology* 94: 1066 – 1071

Ringkasan

Proses penapaian merupakan salah satu kaedah pengawetan makanan yang paling lama wujud. Proses ini berlaku apabila mikrob seperti bakteria asid laktik (LAB) menggunakan bahan makanan sebagai substrat untuk membiak. Penapaian menggunakan inokulan LAB juga boleh meningkatkan nilai nutrisi dan kadar pencernaan makanan tersebut. Ia juga mempunyai keupayaan untuk mengurangkan kandungan komponen antinutrisi seperti tanin, terutamanya tanin tersejat, meningkatkan kebolehdapatan protein, serat dan tenaga. LAB juga banyak digunakan dalam pelbagai industri makanan dan telah memainkan peranan yang penting dalam proses pengawetan foraj segar untuk dijadikan sebagai makanan ternakan (silaj). Penggunaan LAB dalam silaj akasia (*Acacia mangium*) telah dijalankan dalam kajian ini, yang mana silaj tersebut telah diperam dalam dua tempoh yang berbeza iaitu selama dua minggu dan enam minggu. Nilai pH didapati telah turun kepada 4.46 pada umur silaj dua minggu. Namun begitu, kadar penurunan tanin dilihat lebih banyak pada umur silaj enam minggu, iaitu sebanyak 40% tanin telah berkurang. Nilai proksimat dan tenaga dalam silaj dua minggu dan enam minggu dilihat tidak memberikan banyak perbezaan dengan sampel akasia segar, kecuali kandungan tanin dan hemiselulosa. Oleh yang demikian, dapat disimpulkan bahawa penggunaan LAB sebagai inokulan adalah digalakkan untuk membuat silaj daripada tumbuhan yang tinggi kandungan tanin seperti *Acacia mangium*.

Summary

Silaging is one of the oldest forms for food preservation in the world. The process is happen when microbes, such as lactic acid bacteria (LAB), using the feed source as a substrate for growth and production. Therefore, it results on increasing the nutritional and digestibility values of the feed stuff. The LAB also has the ability to reduce certain amount of antinutritional compounds (such as tannin) in the plant silage, LAB also been used in food industry, as it plays a vital role as preservatives in fresh forages for feed industry. In current study, LAB was used as the inoculant for *Acacia mangium* silage. The silage was fermented in two duration of time, which are two weeks and six weeks. After two weeks-old of the silage, the pH value were decreased to 4.46, showing that the silage process was done. However, in six weeks-old silage, showed 40% of tannin reduction without any different in proximate and energy values with two weeks-old silage and fresh sample, except on tannin and hemicellulose contents. Therefore, it is concluded that the use of LAB as the silage inoculant is highly recommended as for high tannin plant, such as *Acacia mangium*.

Pengarang

Nasyatul Ekma Mohd Hussin
Pusat Penyelidikan Sains Ternakan, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor
E-mel: nasyatul@mardi.gov.my

Marini Ahmad Marzuki dan Nor Idayusni Yunus
Pusat Penyelidikan Sains Ternakan, MARDI Kemaman,
Peti surat No. 44, 24007 Kemaman, Terengganu

Mohd Rosly Shaari dan Siti Masidayu Mat Saad
Pusat Penyelidikan Sains Ternakan, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor