

VIABILITAS PROBIOTIK *Lactobacillus casei* PADA YOGURT SUSU KAMBING SELAMA PENYIMPANAN BEKU

Viability of The Lactobacillus casei Probiotic in Yoghurt from Goat Milk during Frozen Storage

Antonia Nani Cahyanti

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian dan Peternakan, Universitas Semarang
Jalan Soekarno-Hatta, Tlogosari, Semarang
Penulis Korespondensi: email nanicahyanti@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini ditujukan untuk mengkaji viabilitas probiotik *L. casei* pada yogurt susu kambing selama penyimpanan beku. Yogurt dibuat dengan *L. casei* sebagai starter probiotik, disimpan pada pembeku selama 0, 2, 4, dan 6 hari, dan dianalisis meliputi pH, keasaman, dan total probiotik. Hasil menunjukkan bahwa pertumbuhan probiotik menurun secara nyata pada hari ke-2 sampai ke-6 penyimpanan, yang ditunjukkan oleh penurunan keasamaan total probiotik, dan peningkatan pH. Probiotik bersifat adaptif terhadap kondisi pembekuan pada hari ke-2 sampai ke-6 penyimpanan yang ditunjukkan oleh peningkatan total probiotik, keasaman, dan penurunan pH. Total probiotik sampai akhir penyimpanan beku adalah 7.96 log CFU/mL yang memenuhi standar Codex Alimentarius untuk susu fermentasi.

Kata kunci: yogurt, probiotik, penyimpanan beku, viabilitas

ABSTRACT

This research was conducted to study the viability of the probiotic L. casei in yoghurt from goat's milk during frozen storage. Yoghurts were made with L. casei as a probiotic starter, stored in freezer for 0, 2, 4, and 6 days, and also evaluated for pH, acidity, and probiotic count. The result showed that probiotic growth was decreased just on the 2nd day of storage significantly, and it was marked with the decreasing of acidity, probiotic count, and the increasing of pH. The probiotic seemed to be adaptive with the freezing condition after the 2nd day of storage until the 6th day of storage. It was marked with the increasing of probiotic count, acidity, and the decreasing of pH. The probiotic count at the end of frozen storage were 7.96 log CFU/mL, which fulfilled the Codex Alimentarius requirement for fermented milk consumption.

Keywords: yogurt, probiotic, frozen storage, viability

PENDAHULUAN

Situasi terkini menunjukkan terjadi kecenderungan penggantian makanan olahan dan makanan "prestise" sebagai makanan utama (Bintoro, 2009). Kebiasaan yang timbul adalah mengkonsumsi berbagai makanan atau minuman cepat saji. Melihat situasi demikian, susu fermentasi yang sehat memiliki potensi untuk dikembangkan agar lebih populer dan menarik dengan penambahan probiotik di dalamnya. Dalam perkembangannya, susu fermentasi dimodifikasi menjadi *frozen yoghurt* atau *froyo*, yaitu yogurt yang dibekukan dalam freezer. Pengembangan *froyo* sebagai

pembawa probiotik mengikuti pendapat Heller (2001), bahwa perlu dilakukan optimalisasi agar mikrob fermentasi dapat bertahan hidup di dalam penyimpanan beku.

L. casei digolongkan ke dalam probiotik karena dapat meningkatkan kesehatan yang mengkonsumsinya. Bakteri ini dapat meningkatkan fungsi pencernaan dengan cara memproduksi asam laktat yang menurunkan jumlah bakteri yang merugikan dalam saluran pencernaan, sehingga dapat mencegah gangguan pencernaan terutama konstipasi dan diare. Perusahaan makanan dari Jepang yaitu Yakult Honsha, telah mengembangkan *L. casei* strain Shirota sebagai probiotik yang

diaplikasikan dalam minuman fermentasi berbahan dasar susu skim. Bakteri tersebut adalah galur unggul yang mudah dan cocok untuk dikembangkan dalam minuman dasar susu, mampu bertahan dari pengaruh asam lambung dan dalam cairan empedu, sehingga mampu bertahan hidup hingga usus halus.

Pengembangan probiotik dalam froyo berpotensi mengalami kendala, yaitu mempertahankan viabilitasnya. Viabilitas yang baik akan menentukan jumlah probiotik yang akan dikonsumsi, dan yang mampu bertahan hidup dalam saluran pencernaan manusia, sehingga menimbulkan efek kesehatan. Hal ini diperkirakan berhubungan dengan mekanisme adaptasi probiotik itu terhadap kondisi lingkungan pada saat pengolahan susu. Dalam penelitian Bozanic dan Tratnick (2001), viabilitas probiotik dalam susu fermentasi dipengaruhi oleh kandungan nutrisi dalam susu. Dalam penelitiannya, viabilitas probiotik selama penyimpanan refrigerasi pada susu fermentasi berbahan dasar susu kambing lebih tinggi daripada susu fermentasi berbahan dasar susu sapi. Susu kambing memiliki potensi yang besar sebagai pembawa probiotik karena komponen di dalamnya mendukung ketersediaan energi, aktivitas enzim metabolisme dan fungsi sel-sel probiotik.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui viabilitas probiotik pada produk olahan susu yang mengalami proses pembekuan (Hekmat dan McMahon, 1992; Davidson *et al.*, 2000). Kualitas mikrobiologi yang baik tentunya dipengaruhi variabel mutu mikrobiologi yang harus tetap diperoleh selama masa simpan tertentu untuk menjamin kualitasnya sampai pada saat akan dikonsumsi. Untuk itu perlu upaya mengetahui dinamika pertumbuhan kultur probiotik dalam froyo selama penyimpanan beku, dan diharapkan dapat dikembangkan produk froyo probiotik dari susu asal ternak lokal asli plasma nutfah Indonesia.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan pH, total asam laktat, total probiotik *L. casei*, dan kadar laktosa pada froyo akibat lama penyimpanan beku. Hipotesis penelitian ini adalah perbedaan lama penyimpanan yang digunakan tidak menyebabkan perbedaan pH, total asam laktat, total probiotik *L. casei*, dan kadar

laktosa pada froyo yang menggunakan *starter* probiotik *L. casei*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Susu kambing diperoleh dari peternakan rakyat dengan ternak kambing yang sama dan berada pada masa laktasi yang sama, selama bulan periode laktasi. Kultur *L. casei* strain *Shirota* diperoleh dari produk susu fermentasi merek Yakult.

Alat

Refrigerator dan *freezer* yang digunakan keduanya bermerk Sanyo dengan masing-masing suhu refrigerasi 4 °C dan suhu pembekuan 0 °C.

Metode Penelitian

Fermentasi susu kambing dilakukan berdasarkan Nurfitasari (2006), didahului dengan menentukan waktu fermentasi yang optimum agar diperoleh total probiotik $\geq 10^6$ CFU/mL dengan total asam laktat 0.6%. Dihasilkan total probiotik *L. casei* pada kultur kerja umur 24 jam sebesar 1.1×10^8 CFU/mL dan waktu inkubasi 6 jam untuk memperoleh total asam laktat yogurt 0.6% pada suhu 40 °C.

Penelitian utama meliputi beberapa kegiatan sebagai berikut: fermentasi pada suhu 40 °C selama 6 jam, pendinginan untuk proses adaptasi probiotik pada suhu 4 °C dalam refrigerator selama 4 jam, pembekuan dalam *freezer* pada suhu 0 °C, penyimpanan froyo pada *freezer* pada suhu 0 °C selama 6 hari, pengujian hasil penelitian pada lama penyimpanan, dan memperoleh data variabel pengamatan dari pengujian sampel, yaitu pH (Legowo *et al.*, 2005), total asam laktat (Legowo *et al.*, 2005), total probiotik *L. casei* dan kadar laktosa (Cahyanti, 2008) pada setiap lama penyimpanan 0, 2, 4, dan 6 hari.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor. Sebagai perlakuan adalah lama penyimpanan dengan taraf 0, 2, 4, dan 6 hari. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan Uji Wilayah Ganda dari Duncan untuk mengetahui tingkat perbedaan antar perlakuan tersebut pada taraf signifikansi 0.05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Asam Laktat dan pH Yogurt selama Penyimpanan Beku

Keasaman yogurt susu kambing ditunjukkan dengan total asam laktat dan pH. Keasaman yogurt susu kambing mencapai 0.64% (Tabel 1). Menurut Heller (2001), nilai keasaman yang diperoleh dalam pembuatan susu fermentasi antara 0.6–1.3% setara asam laktat.

Selama penyimpanan pada suhu pembekuan, terjadi penurunan total asam laktat secara tajam pada hari ke-2 ($P < 0.05$). Penurunan total asam laktat yang selaras dengan peningkatan pH diikuti oleh penurunan viabilitas probiotik *L. casei* yang sangat tajam ($P < 0.05$), ditunjukkan dengan jumlah total bakteri asam laktat (BAL) 0 log CFU/mL. Hal ini selaras dengan penelitian Soro *et al.* (2010), bahwa penurunan konsentrasi ion H^+ dalam medium pertumbuhan mikroba pada suhu pembekuan dapat mengganggu keseimbangan sifat permeabilitas selektif pada membran sel terhadap elektrolit yang terdapat di dalam medium, maupun gradien konsentrasi antara sel dengan lingkungannya yaitu medium pertumbuhannya. Hal ini mengakibatkan perubahan osmolaritas internal sel yang selanjutnya berdampak pada kematian sel. Menurut Soro *et al.* (2010), secara statistik ditunjukkan bahwa terjadi peningkatan persentase elektrolit dalam sel yang erat hubungannya dengan penurunan persentase sel yang hidup, dengan koefisien determinasi (R^2)=0.90.

Peningkatan total asam laktat secara signifikan ($P < 0.05$) kembali terjadi pada hari ke-4 dan tidak berbeda secara signifikan pada hari ke-6. Selaras dengan nilai pH yang menurun secara signifikan pada hari ke-4 ($P < 0.05$) dan tidak berbeda secara signifikan pada hari ke-6.

Peningkatan total asam laktat yang selaras dengan penurunan pH menunjukkan adanya aktivitas metabolisme sel probiotik. Total asam laktat menunjukkan konsentrasi asam laktat sebagai hasil metabolisme laktosa susu menjadi galaktosa dan glukosa. Glukosa kemudian memasuki tahap metabolisme melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas yang dikenal dengan sebutan glikolisis, menjadi D-asam laktat.

Kadar Laktosa Yogurt selama Penyimpanan Beku

Kadar laktosa yogurt probiotik selama enam hari penyimpanan pada suhu pembekuan dapat dilihat pada Tabel 1. Secara umum terjadi penurunan kadar laktosa selama penyimpanan. Adanya metabolisme laktosa kembali, menunjukkan bahwa probiotik *L. casei* mampu beradaptasi terhadap suhu pembekuan.

Total Probiotik Yogurt selama Penyimpanan Beku

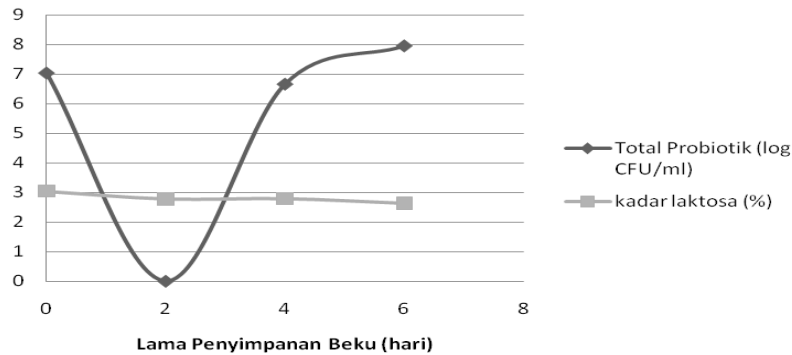
Total Probiotik *L. casei* yogurt probiotik selama enam hari penyimpanan pada suhu pembekuan dapat dilihat pada Tabel 1. Pertumbuhan probiotik selama penyimpanan mengalami penurunan tajam pada hari ke-2 ($P < 0.05$). Pada hari ke-4 dan ke-6 mengalami peningkatan secara signifikan.

Menurut Moat dan Foster (1988), suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri pada umumnya. Temperatur yang ekstrim dapat menyebabkan inaktivasi enzim-enzim dan fungsi struktur sel, seperti membran sel.

Menurut Yousef dan Juneja (2003), penurunan temperatur dapat menyebabkan penurunan fluiditas lapisan ganda fosfolipid yang menyusun membran sel. Lebih lanjut dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi senyawa terlarut dalam sel yang dapat mendorong terjadinya *osmotic injury* pada protein sel. Kematian sel akibat pembekuan terutama disebabkan *osmotic injury* protein sel

Tabel 1. Nilai pH, total asam laktat, kadar laktosa, dan total probiotik yogurt probiotik susu kambing selama penyimpanan beku

Penyimpanan Beku (hari)	Total Asam Laktat (%)	pH	Kadar Laktosa (%)	Total Probiotik (Log CFU/mL)
0	0.64 a	5.51 b	3.05 a	7.04 c
2	0.49 b	5.94 a	2.78 b	0.00 a
4	0.64 a	5.41 b	2.79 b	6.66 b
6	0.67 a	5.61 b	2.63 c	7.96 d



Gambar 1. Pengaruh lama penyimpanan beku terhadap total probiotik dan kadar laktosa yogurt probiotik asal susu kambing

yang menyebabkan kerusakan membran sel dan denaturasi DNA. Kedua hal inilah yang menyebabkan terjadinya penurunan total probiotik hingga mencapai pertumbuhan nol pada 2 hari penyimpanan suhu pembekuan. Pada penyimpanan beku terjadi perubahan pada membran sel dari bentuk likuid menjadi fasa kristal yang menyebabkan penurunan fluiditas membran. Perubahan membran sel tersebut telah diidentifikasi sebagai akibat adanya peningkatan proporsi asam lemak jenuh dibandingkan asam lemak tidak jenuh pada membran sel. Namun demikian, *L. casei* tergolong ke dalam bakteri asam laktat yang diketahui mempunyai mekanisme adaptasi terhadap *stress* lingkungan, termasuk di dalamnya suhu pembekuan.

Dapat dilihat pada Tabel 1, bahwa pada penyimpanan hari ke-4 dan ke-6, terdapat pertumbuhan sel probiotik *L. casei* kembali, hingga mencapai 7.96 log CFU/mL pada akhir masa penyimpanan. Bakteri ini dapat mengalami *stress*, yaitu mengalami kondisi lingkungan yang jauh berbeda dari yang optimum untuk pertumbuhannya, sehingga mempengaruhi ketahanan hidupnya. Bakteri yang mengalami *stress* akan mengeluarkan respon. Respon tersebut semakin lama akan semakin meningkatkan toleransi mikroorganisme terhadap *stress* tersebut. Fenomena ini disebut dengan mekanisme adaptasi atau protektif.

Menurut Yousef dan Juneja (2003), adaptasi bakteri terhadap suhu rendah merupakan proses aktif yang menyebabkan peningkatan konsentrasi asam lemak tidak jenuh dan sintesis polipeptida. Dengan demikian akan terjadi perubahan kembali komponen asam lemak membran sel sehingga

mendorong tercapainya nilai optimum bagi fluiditas membran sel.

SIMPULAN

Lama penyimpanan pada suhu pembekuan menyebabkan terjadinya penurunan pertumbuhan pada hari ke-2 penyimpanan, ditandai dengan penurunan total asam laktat, peningkatan pH, dan penurunan total probiotik. Bakteri probiotik *L. casei* strain Shirota memiliki mekanisme adaptasi yang baik terhadap penyimpanan beku, selama 6 hari masa simpan. Ditandai dengan peningkatan kembali total asam laktat, penurunan pH dan peningkatan total probiotik. Total probiotik pada akhir penyimpanan pembekuan mencapai 7.96 log CFU/mL, di mana telah memenuhi persyaratan Codex Alimentarius untuk susu fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bintoro VP. 2009. *Pangan antara Kebutuhan dan Ancaman*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang
- Bozanic R and Tratnick L. 2001. Quality of cow's and goat's fermented bifido milk during storage. *Food Technol. Biotechnol.* 39(2):109-114
- Cahyanti AN. 2008. Karakteristik Susu Kambing Fermentasi Menggunakan Starter Probiotik *Lactobacillus acidophilus* Pada Lama Penyimpanan yang Berbeda. Tesis. Magister Ilmu Ternak. Universitas Diponegoro. Semarang

- Davidson RH, Duncan SE, Hackney CR, Eigel WN, and Boling JW. 2000. Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristics. *J. Dairy Sci.* 83(4):666-673
- Hekmat S and McMahon DJ. 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *J. Dairy Sci.* 75:1415-1422
- Heller KJ. 2001. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organism. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(suppl):374S-9S
- Legowo AM, Nurwantoro, dan Sutaryo. 2005. *Analisis Pangan*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang
- Moat AG and Foster JW. 1998. *Microbial Physiology*. John Wiley & Sons inc., Singapore
- Nurfitasari A. 2006. Kualitas *Asidophilus* Milk Berbahan Dasar Susu Kambing dengan Penambahan Tepung Albumen. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Soro AA, Dje KM, and Thonart P. 2010. An improved test to study the changes in membran permeability during rehydration of freeze-dried *Weissella paramesenteroides* LC11. *The Open Biotechnology Journal* (4):8-13
- Yousef AE and Juneja VK. 2003. *Microbial Stress Adaptation and Food Safety*. CRC Press, New York