

# TOTAL PROBIOTIK DAN SIFAT KIMIAWI FROZEN YOGHURTPADA PENYIMPANAN BEKU

*Probiotic Count in Frozen Yogurt and Its Chemical Characteristics*

Oleh :

Antonia Nani Cahyanti dan Adi Sampurno  
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Semarang  
e-mail : nanicahyanti@gmail.com

## ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui viabilitas *L.casei* dalam yogurt susu kambing dan karakteristiknya selama penyimpanan beku. Yogurt dibuat menggunakan starter probiotik *L.casei*, disimpan dalam freezer selama 0,2,4,6 hari, dan dievaluasi pH, total asam, dan total probiotik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan total probiotik secara signifikan pada penyimpanan hari ke-2, yang ditandai dengan penurunan total asam, total probiotik, dan peningkatan pH. Diduga terjadi fenomena adaptasi probiotik terhadap kondisi penyimpanan beku setelah hari ke-2 penyimpanan, yang ditandai dengan peningkatan total probiotik, total asam, dan penurunan pH.

Kata kunci : yogurt, probiotik, penyimpanan beku

## ABSTRACT

*The aim of this research was to study the viability of L.casei in yoghurt from goat's milk and its characteristic during frozen storage. Yogurts were made with L.casei as a probiotic starter, stored in freezer for 0,2,4,6 days, and evaluated for pH, titratable acidity, and probiotic count. The results showed that probiotic growth is decreased just on the 2<sup>nd</sup> 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 2<sup>nd</sup> day of storage until the 6<sup>th</sup> day of storage. It was marked with the increasing of probiotic count, acidity, and the decreasing of pH.*

*Key word : yoghurt, probiotic, frozen storage*

## PENDAHULUAN

Mengamati kebiasaan publik mengkonsumsi berbagai pangan cepat saji dewasa ini, di berbagai daerah pusat perbelanjaan, daerah wisata,

dan area publik yang lain., makasusu fermentasi yang diketahui sehat untuk dikonsumsi, memiliki potensi untuk dikembangkan agar lebih populer dan menarik. Salah satunya adalah dengan penambahan probiotik di dalamnya.

Dalam perkembangannya, susu fermentasi dapat dimodifikasi lebih lanjut menjadi Frozen yoghurt atau sering disebut dengan froyo. Froyo adalah yogurt yang dibekukan dalam freezer. Pengembangan froyo sebagai pembawa probiotik sesuai dengan pendapat Heller (2001) bahwa produk olahan susu banyak digunakan sebagai pembawa probiotik dan dilakukan optimalisasi agar mikroba fermentasi dapat bertahan hidup di dalamnya.

*L.casei* digolongkan ke dalam probiotik karena dapat meningkatkan kesehatan manusia yang mengkonsumsinya secara benar. Bakteri ini dapat meningkatkan fungsi pencernaan. Bakteri ini mampu memproduksi asam laktat yang dapat meningkatkan jumlah bakteri yang menguntungkan dan menurunkan jumlah bakteri yang merugikan, mencegah gangguan pencernaan terutama konstipasi dan diare serta mengaktifkan sel-sel kekebalan tubuh. Bakteri ini mampu bertahan dari pengaruh asam lambung, juga mampu bertahan dalam cairan empedu sehingga mampu bertahan hidup hingga usus halus (Cahyanti, 2008). Peranannya terhadap kesehatan manusia adalah untuk memperbaiki penyerapan kalsium pada usus, melancarkan buang air besar, penyerapan bahan karsinogenik, membunuh bakteri patogen dan bersifat anti tumor.

Viabilitas probiotik dalam froyo berpotensi mengalami kendala. Viabilitas yang baik akan menentukan jumlah yang akan dikonsumsi, dan yang mampu bertahan hidup dalam saluran pencernaan manusia, sehingga menimbulkan efek kesehatan. Salah satu keberhasilan efek probiotik dalam lingkungan mikroekologi saluran pencernaan adalah jumlah

probiotik yang besar dan kemampuannya bertahan hidup dalam lingkungan tersebut (Krisnakumar, 2001). Hal ini diperkirakan berhubungan dengan mekanisme adaptasi probiotik itu sendiri yang dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya jumlah awal probiotik yang ditambahkan, adanya proses pembekuan, dan lama penyimpanan dalam kondisi beku.

Daya hidup atau viabilitas probiotik dalam susu fermentasi dipengaruhi oleh jenis susu akibat kandungan nutrisi yang berbeda (Bozanic dan Tratnick (2001). Dalam penelitiannya, viabilitas probiotik selama penyimpanan refrigerasi pada susu fermentasi berbahan dasar susu kambing lebih besar daripada susu fermentasi berbahan dasar susu sapi. Susu sapi dan susu kambing masing-masing mempunyai karakteristik fisik, kimiawi, dan mikrobiologi yang khas, sehingga dalam pemanfaatannya menjadi produk fermentasi seperti froyo akan diperoleh hasil yang berbeda-beda pula. Namun baik susu sapi maupun susu kambing memiliki potensi yang besar sebagai pembawa probiotik karena komponen di dalamnya mendukung ketersediaan energi, aktivitas enzim metabolisme dan fungsi sel-sel probiotik.

Penelitian mengenai viabilitas probiotik telah dilakukan untuk pada produk olahan susu yang mengalami proses pembekuan. Hekmat dan Mc.Mahon (1992) menyatakan bahwa, pembekuan es krim mengakibatkan penurunan satu siklus log total mikroba (*L.acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum*) pada es krim probiotik yang diinisiasi dengan sejumlah  $5,0 \times 10^8$  CFU/ml untuk masing-masing starternya. Setelah 1 minggu pembekuan, jumlah

*L.acidophilus* mencapai  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml, sedangkan jumlah *B.bifidum* mencapai  $2,5 \times 10^8$  CFU/ml. Holcomb et al.(1991, dalam Hekmat dan Mc.Mahon, 1992) menyatakan, bahwa starter probiotik *L.acidophilus* dapat tumbuh baik pada froyo sebelum dan setelah proses pembekuan pada suhu  $-5^{\circ}\text{C}$ . Viabilitas froyo menggunakan starter konvensional maupun kombinasi starter konvensional dengan starter probiotik *B.longum* dan *L.acidophilus* (Davidson et al.,1999). Pada froyo yang dihasilkan dengan pembekuan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 11 minggu, tidak ditemukan adanya penurunan viabilitas.

Cahyanti (2008), menyatakan beberapa fakta bahwa, penggunaan jumlah starter probiotik menentukan viabilitasnya pada susu fermentasi. Nighswonger et al. (1995) memberi gambaran bahwa agar diperoleh susu fermentasi dengan jumlah probiotik minimal yang memenuhi standar, starter yang ditambahkan harus mengandung sejumlah probiotik minimal pula. Kualitas mikrobiologi yang rendah akan kurang diterima baik oleh konsumen terutama sehubungan dengan isu peningkatan kesehatan melalui konsumsi susu fermentasi dan froyo khususnya. 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 yang ditindaklanjuti dengan melakukan penelitian variabel mutu mikrobiologi froyo selama penyimpanan beku. Dengan penelitian tersebut diharapkan dapat dikembangkan

produk froyo probiotik dari susu asal ternak lokal asli plasma nutfah Indonesia.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan rata-rata sampel pH, total asam laktat, total probiotik *L.casei*, dan kadar laktosa pada froyo akibat lama penyimpanan beku. Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut : perbedaan lama penyimpanan yang digunakan tidak menyebabkan perbedaan pH, total asam laktat, total probiotik *L.casei*, dan kadar laktosa pada froyo, menggunakan starter probiotik *L.casei*.

## BAHAN DAN METODA

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Pengolahan di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Semarang. Bahan dan peralatan untuk fermentasi susu terdiri atas susu kambing segar, akuadestilata, kultur *L.casei* strain Shirota, bahan dan peralatan transfer aseptis, peralatan gelas steril, penangas air, otoklaf, refrigerator dan freezer. Susu diperoleh dari ternak kambing yang sama, dari peternakan rakyat di daerah Sidomulyo, Kabupaten Ungaran. Ternak-ternak tersebut berada pada masa laktasi yang sama, selama bulan periode laktasi. Kultur diperoleh dari produk susu fermentasi merek Yakult. Refrigerator dan freezer yang digunakan bermerk Sanyo dengan suhu refrigerasi  $4^{\circ}\text{C}$  dan suhu pembekuan  $0^{\circ}\text{C}$ .

Fermentasi susu kambing dilakukan berdasarkan Nurfitasari (2006), menggunakan starter probiotik *L.casei* strain Shirota. Dilakukan penelitian pendahuluan untuk menentukan waktu fermentasi

yang optimal 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  $1,1 \times 10^8$  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* (Downes dan Ito, 2001) dan kadar laktosa (Cahyanti, 2008) pada setiap lama penyimpanan 0,2,4,6 hari.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor. Sebagai perlakuan adalah lama penyimpanan dengan taraf 0,2,4,6 hari. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan sidik ragam. Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan, yang berarti ada

pengaruh perlakuan lama penyimpanan pada hasil pengamatan, pada taraf signifikansi 5%, maka dilanjutkan dengan Uji Wilayah Ganda dari Duncan untuk mengetahui tingkat perbedaan antar perlakuan tersebut. Program SAS menggunakan prosedur General Linear Models dari komputer digunakan untuk menganalisis data tersebut.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Total Probiotik Yogurt Probiotik Asal Susu Kambing pada Penyimpanan Suhu Pembekuan.

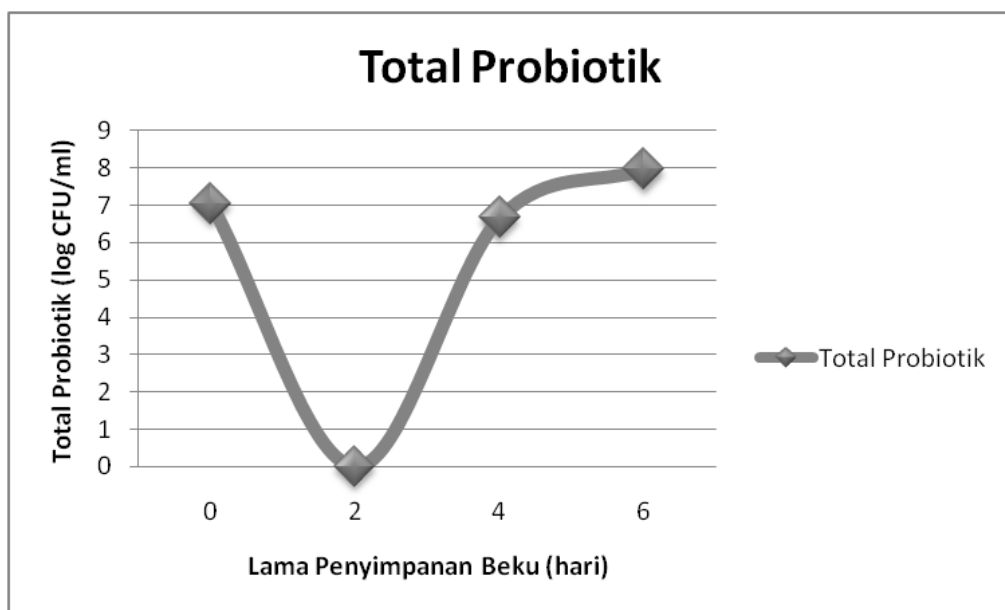
Total Probiotik *L.casei* yogurt probiotik selama enam hari penyimpanan pada suhu pembekuan dapat dilihat pada Tabel 1. Pertumbuhan probiotik selama penyimpanan mengalami penurunan tajam pada hari ke-2 ( $P < 0,05$ ). Pada hari ke-4 dan ke-6 mengalami peningkatan secara signifikan. Menurut Moat dan Foster (1988), suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri pada umumnya. Temperatur yang ekstrim dapat menyebabkan inaktivasi enzim-enzim dan fungsi struktur sel, seperti membran sel.

Tabel 1. Total Probiotik *L.casei* Froyo Selama Penyimpanan Beku

No.	Penyimpanan beku (hari)	Total Probiotik (log CFU/ml)
1.	0	7,04019 <sup>a</sup>
2.	2	0,00000 <sup>b</sup>
3.	4	6,66453 <sup>c</sup>
4.	6	7,95876 <sup>d</sup>

Menurut Yousef dan Juneja (2003), penurunan temperatur dapat menyebabkan penurunan fluiditas fosfolipid bilayer 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 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.



Ilustrasi 1. Total Probiotik Froyo Selama Penyimpanan Beku

Penurunan viabilitas *L.casei* pada penelitian ini selaras dengan penelitian Castro, dkk. tentang penurunan viabilitas *L.bulgaricus* pada penyimpanan beku. Dinyatakan bahwa, 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 7,95876 log CFU/ml pada akhir masa penyimpanan. Bakteri ini dapat mengalami stress, yaitu mengalami kondisi lingkungan yang jauh berbeda dari yang optimal 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.

### **Total Asam dan pH Froyo pada Penyimpanan Beku**

Keasaman yogurt susu kambing ditunjukkan dengan total asam laktat dan pH. Pada Tabel 2 ditunjukkan bahwa keasaman yogurt susu kambing mencapai 0,636%. Menurut Heller (2001), nilai keasaman yang diperoleh dalam pembuatan susu fermentasi antara 0,6 – 1,3% setara asam laktat.

Tabel 2. Nilai Total Asam Froyo Selama Penyimpanan Beku

No.	Penyimpanan beku (hari)	Total Asam (%)
1.	0	0,636 <sup>a</sup>
2.	2	0,492 <sup>b</sup>
3.	4	0,615 <sup>a</sup>
4.	6	0,666 <sup>a</sup>

Selama penyimpanan pada suhu pembekuan, terjadi penurunan total asam secara tajam pada hari ke-2 ( $P < 0,05$ ). Penurunan total asam yang selaras dengan peningkatan pH diikuti oleh penurunan viabilitas probiotik *L.casei* yang sangat tajam ( $P < 0,05$ ), ditunjukkan dengan jumlah total BAL 0 log CFU/ml. Hal ini selaras dengan penelitian Soro, dkk.(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

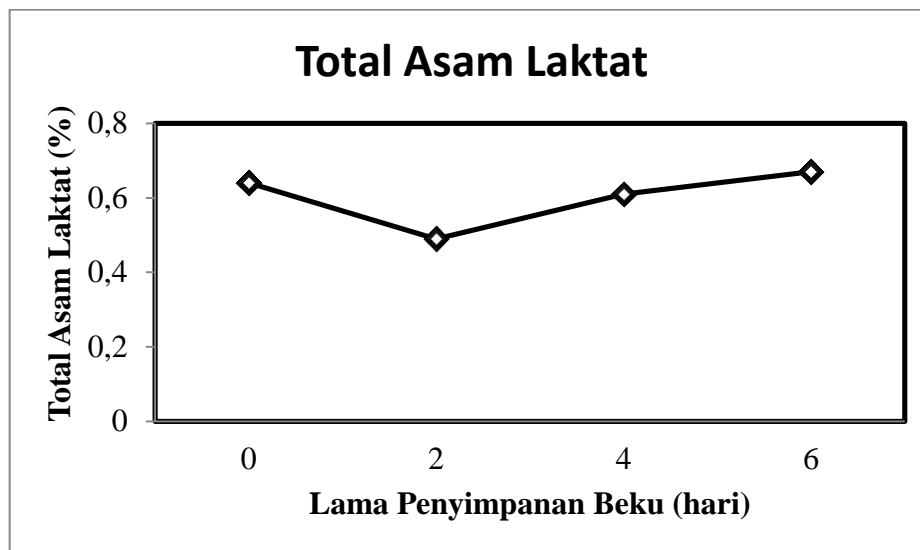
medium, maupun gradien konsentrasi antara sel dengan lingkungannya yaitu medium pertumbuhannya. Hal ini mengakibatkan perubahan osmolaritas internal sel yang selanjutnya berdampak pada kematian sel. Menurut Soro, dkk. (2010), secara statistik ditunjukkan bahwa terjadi peningkatan prosentase elektrolit dalam sel yang erat hubungannya dengan penurunan prosentase sel yang hidup, dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) = 0,90.

Peningkatan total asam 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 yang selaras dengan penurunan pH menunjukkan adanya aktivitas metabolisme sel probiotik kembali. Total asam menunjukkan konsentrasi

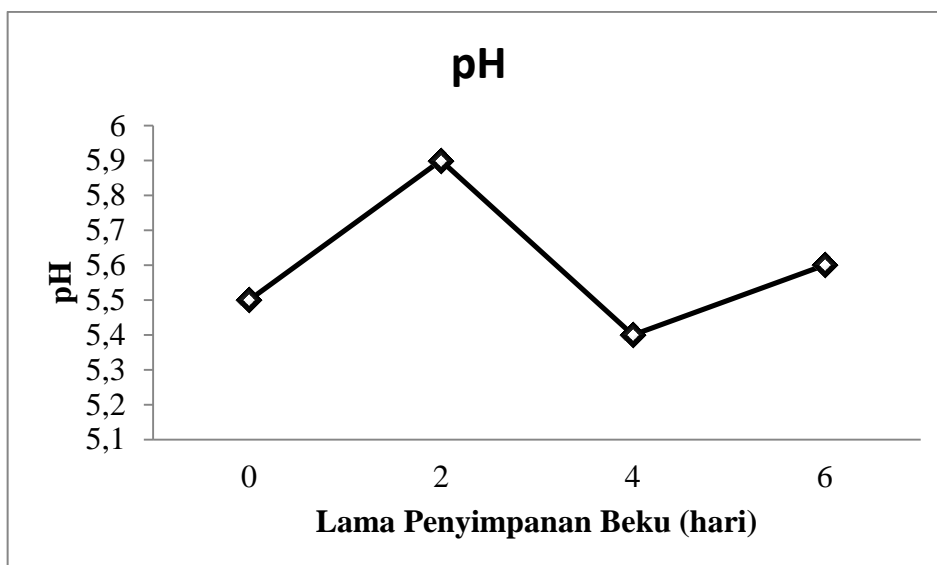
asam laktat sebagai hasil metabolisme laktosa susu menjadi galaktosa dan glukosa. Glukosa kemudian memasuki tahap metabolisme melalui jalur Embden-Meyerhof-Parnas yang dikenal dengan sebutan glikolisis, menjadi D-asam laktat (Wood, 1992).



Ilustrasi 2. Total Asam Froyo Selama Penyimpanan Beku

Tabel 3. pH Froyo Selama Penyimpanan Beku

No.	Penyimpanan beku (hari)	pH
1.	0	5,5133 <sup>b</sup>
2.	2	5,9367 <sup>a</sup>
3.	4	5,4133 <sup>b</sup>
4.	6	5,6067 <sup>b</sup>



Ilustrasi 3. pH Froyo Selama Penyimpanan Beku

#### Kadar Laktosa Froyo Selama Penyimpanan Beku

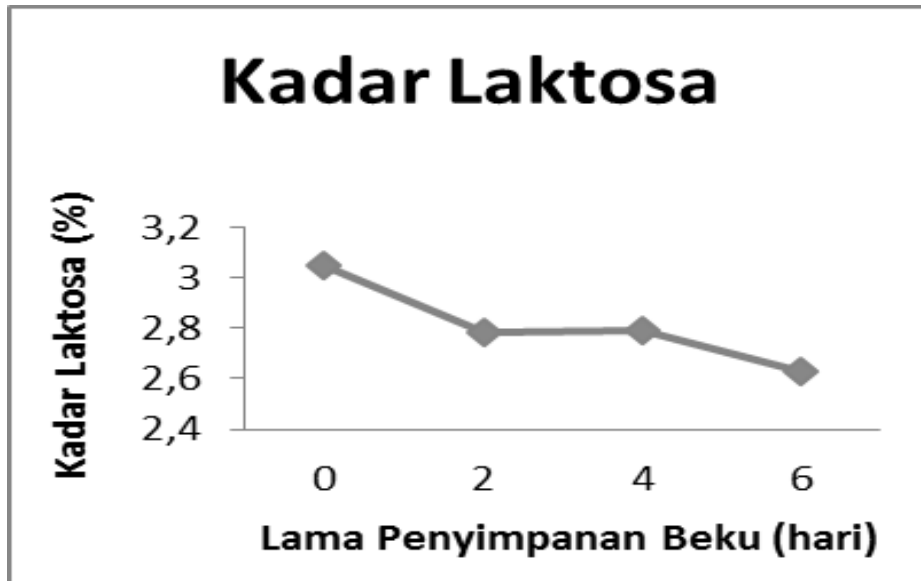
Kadar laktosa yogurt probiotik selama enam hari penyimpanan pada suhu pembekuan dapat dilihat pada Tabel 4. Secara

umum terjadi penurunan kadar laktosa selama penyimpanan. Adanya metabolisme laktosa kembali, menunjukkan bahwa probiotik *L.casei* mampu beradaptasi terhadap suhu pembekuan.

Tabel 4. Kadar Laktosa Froyo Selama Penyimpanan Beku

No.	Penyimpanan beku (hari)	Kadar Laktosa (%)
1.	0	3,0470 <sup>a</sup>
2.	2	2,7833 <sup>b</sup>
3.	4	2,7925 <sup>b</sup>
4.	6	2,6285 <sup>c</sup>





Ilustrasi 4. Kadar Laktosa Froyo Selama Penyimpanan Beku

### SIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa, 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* 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 7.95876 log CFU/ml, di mana telah memenuhi persyaratan CODEX Alimentarius (Cahyanti, 2008) untuk susu fermentasi.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Taraboush, H.M., M.M. Al-Dagal, dan M.A. Al Royli. 1998. Growth, Viability, and Proteolytic Activity of Bifidobacteria in Whole Camel Milk. *J.Dairy Sci.* 81:354-361.
- Bintoro, V.P.2009. Pangan Antara Kebutuhan dan Ancaman. Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang.
- Bozanic, R. dan L. Tratnick. 2001. Quality of Cow's and Goat's Fermented Bifido Milk During Storage. *Food Technol. Biotechnol.* 39(2):109-114.

- Cahyanti, A.N. 2008. Karakteristik Susu Kambing Fermentasi Menggunakan Starter Probiotik *Lactobacillus acidophilus* Pada Lama Penyimpanan yang Berbeda. Magister Ilmu Ternak Universitas Diponegoro. Semarang. Tesis. (Tidak dipublikasikan).
- Davidson, R.H., S.E.Duncan, C.R.Hackney, W.N.Eigel, J.W.Boling. 2000. Probiotic Culture Survival and Implications in Fermented Frozen Yoghurt Characteristics. *J.Dairy Sci.* 83(4) : 666-673.
- Desai, A. 2008. Strain Identification, Viability and Probiotics Properties of *Lactobacillus casei*. School of Biomedical Science and Health Science, Victoria University. Victoria. Australia. Disertasi.
- Gilliland, S.E. dan M.Nostian. 2010. Cellular Component of *Kluyveromyces fragilis* Related to Survival During Frozen Storage.
- Hekmat, S, dan D.J.Mc.Mahon. 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in Ice Cream for Use as a Probiotic Food. *J.Dairy Sci.* 75:1415-1422.
- Heller, K.J.2001. Probiotic Bacteria in Fermented Foods : Product Characteristics and Starter Organism. *Am.J.Clin.Nutr.* 73(suppl) : 374S-9S.
- Law, B.A. 1997. Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk. 2<sup>nd</sup> Edition. Blackie Academic and Professional. London.
- Legowo, A.M., Nurwantoro, dan Sutaryo. 2005. Analisis Pangan. Badan Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang.
- Moat, A.G. dan J.W.Foster.1998. Microbial Physiology. John Wiley & Sons inc. Singapore.
- Nighswonger, B.D, M.M.Brashears, dan S.E. Gilliland. 1996. Viability of *L.acidophilus* and *L.casei* in Fermented Milk Product During Refrigerated Storage. *J.Dairy Sci.* 79:212-219.
- Nurfitasari, A. 2006. Kualitas *Asidophilus* Milk Berbahan Dasar Susu Kambing dengan Penambahan Tepung Albumen. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Skripsi Sarjana Peternakan (Tidak Dipublikasikan).
- Shah, N.P.2000. Symposium : Probiotic Bacteria : Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. *J.Dairy Sci.* 83:894-907.

Soro, A.A., K.M.Dje, dan P.Thonart. 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.

Sudarmadji, S., B.Haryono, dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Edisi ke-4. Liberty. Yogyakarta.

Tamime, A.Y. dan R.K. Robinson. 1985. Yoghurt : Science and Technology. Pergammon Press. New York.

Yousef, A.E. dan V.K. Juneja. 2003. Microbial Stress Adaptation and Food Safety. CRC Press. New York.