

**PENGARUH PENAMBAHAN LARUTAN SUKROSA TERHADAP AKTIVITAS
ANTIBAKTERI MINUMAN SINBIOTIK EKSTRAK CINCAU HIJAU
SELAMA PENYIMPANAN PADA SUHU DINGIN**

***THE EFFECT OF ADDITION OF SUCROSE SOLUTION ON THE
ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF GREEN GRASS JELLY EXTRACT SINBIOTIC
BEVERAGES DURING STORAGE IN COLD TEMPERATURE***

Samsul Rizal, Suharyono, A.S. , dan Julfi Restu Amelia
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

Diterima: 14 Maret 2019, disetujui 9 Juli 2019

ABSTRACT

*Synbiotic drinks have a very acidic taste, so it is necessary to add sucrose solution to get the best taste. This study aims to determine the effect of adding 65% (v/v) sucrose solution to changes in antibacterial activity of green grass jelly synbiotic drinks during storage in cold temperatures. The finished green grass jelly synbiotic product was given two different treatments, namely the product without the addition of sucrose solution and product with the addition of 10% (v/v) of 65% (b/v) sucrose solution. The product was stored for 28 days at a cold temperature of $\pm 10^{\circ}\text{C}$. Observations were carried out every 7 days for antibacterial activity, pH, total acid, and total lactic acid bacteria. Antibacterial activity was evaluated using the agar diffusion method against pathogenic bacteria including *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Bacillus cereus*, and *Eschericia coli*. The results showed that the antibacterial activity, pH, and total lactic acid bacteria of green grass jelly synbiotic drinks both without and with the addition of 65% (b/v) sucrose as much as 10% (v/v) reduced during storage at cold temperatures, while total acid increases. There was no significant difference between the antibacterial activity and the characteristics of the green grass jelly synbiotic drink given 65% sucrose solution and without the addition of 65% sucrose solution. Thus the study concluded that the addition of 65% sucrose solution to increase the preference for the product did not significantly affect the change in antibacterial activity of the green grass jelly synbiotic beverage during storage in cold temperatures.*

Keywords : *Synbiotic Drink, Antibacterial activity, Green grass jelly, sucrose solution, pathogens*

ABSTRAK

Minuman sinbiotik memiliki rasa yang sangat asam sehingga dibutuhkan penambahan larutan sukrosa untuk mendapatkan rasa yang disukai. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan larutan sukrosa 65% (v/v) terhadap perubahan aktivitas antibakteri minuman sinbiotik cincau hijau selama penyimpanan pada suhu dingin. Produk sinbiotik cincau hijau yang sudah jadi diberi dua perlakuan berbeda, yaitu produk tanpa penambahan larutan sukrosa dan produk dengan penambahan 10% (v/v) larutan sukrosa 65% (b/v). Produk tersebut disimpan selama 28 hari pada suhu dingin $\pm 10^{\circ}\text{C}$. Pengamatan dilakukan setiap 7 hari sekali terhadap aktivitas antibakteri, pH, total asam, dan total bakteri asam laktat. Aktivitas antibakteri dievaluasi dengan menggunakan metode difusi agar terhadap bakteri patogen meliputi *S. aureus*, *Salmonella sp.*, *Bacillus cereus*, dan *E. coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa selama penyimpanan pada suhu dingin aktivitas antibakteri, pH, dan total bakteri asam laktat minuman sinbiotik cincau hijau baik dengan maupun tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) berkurang selama penyimpanan, sedangkan total asam meningkat. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara aktivitas antibakteri dan karakteristik minuman sinbiotik cincau hijau yang diberi larutan sukrosa 65% dengan tanpa penambahan larutan sukrosa 65%. Dengan demikian penelitian ini menyimpulkan bahwa penambahan sebanyak 10% larutan sukrosa 65% yang dilakukan tidak secara signifikan berpengaruh terhadap perubahan aktivitas antibakteri selama penyimpanan pada suhu dingin.

Kata kunci : Minuman Sinbiotik, Aktivitas antibakteri, Cincau hijau, Patogen

PENDAHULUAN

Minuman sinbiotik merupakan salah satu produk minuman fungsional yang banyak bermanfaat bagi kesehatan. Minuman sinbiotik adalah minuman yang mengandung mikroba probiotik dan senyawa prebiotik. Menurut Elsaputra, *et al.*, (2016) minuman probiotik sendiri merupakan produk yang mengandung mikroorganisme hidup seperti bakteri asam laktat yang dapat mencapai saluran pencernaan dalam kondisi aktif. Di antara manfaat dari minuman sinbiotik adalah kemampuannya menekan pertumbuhan mikroba patogen makanan yang dapat mengganggu kesehatan saluran pencernaan.

Berbagai penelitian hingga saat ini menunjukkan bahwa keseimbangan mikroflora usus besar mempunyai andil yang sangat besar terhadap kesehatan manusia. Jika keseimbangan terganggu, bakteri patogen akan meningkat sehingga ketahanan terhadap penyakit infeksi

usus akan menurun dan kesehatan akan terganggu. Mengonsumsi minuman yang difermentasi bakteri asam laktat diketahui dapat meningkatkan ketahanan terhadap penyakit infeksi terutama infeksi usus dan mempengaruhi keseimbangan mikroflora usus (Roos and Katan, 2000; Rizal, dkk. 2007). Minuman sinbiotik dari cincau hijau merupakan salah satu minuman yang difermentasi dengan bakteri asam laktat. Potensi minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dalam mengatasi diare dapat dilihat dari seberapa besar kemampuan minuman tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen penyebab diare. Kemampuan tersebut dikarenakan adanya senyawa antibakteri, seperti asam laktat, yang terkandung dalam minuman sinbiotik cincau hijau. Hasil penelitian Nurainy, *et al.* (2015) menyatakan bahwa minuman sinbiotik ekstrak cincau yang dihasilkan dengan penambahan sari buah mampu memiliki aktivitas anti bakteri terhadap bakteri-bakteri patogen seperti *S.*

aureus, *E.coli*, *B. cereus* dan *Salmonella sp.*, memperbaiki kualitas mikroflora saluran pencernaan mencit percobaan, yaitu dengan meningkatkan jumlah total bakteri asam laktat (bal) dan menurunkan jumlah total koliform. Peningkatan jumlah bakteri asam laktat berpengaruh terhadap peningkatan total asam dan peningkatan total asam berpengaruh terhadap penurunan koliform bakteri patogen lainnya (Nurainy, *et al*, 2015). Oleh karena itu perlu dilakukan kajian aktivitas antibakteri minuman sinbiotik cincau hijau.

Minuman sinbiotik yang dihasilkan akan terasa sangat asam dikarenakan akumulasi asam laktat yang diproduksi bakteri asam laktat selama proses fermentasi. Menurut Shofi, (2012), minuman probiotik kurang diminati masyarakat karena rasanya sangat asam dan aromanya sangat menyengat. Menurut Abdillah *et al*. (2014) untuk meningkatkan cita rasa tape yang disukai oleh masyarakat dapat dilakukan dengan menambahkan gula. Gula tersebut juga dapat berfungsi sebagai stater mikroorganisme untuk mempercepat proses fermentasi. Oleh karena itu, untuk siap dikonsumsi, minuman sinbiotik pada penelitian ini masih perlu optimasi lebih lanjut, misalnya dengan penambahan gula seperti sukrosa agar menghasilkan rasa yang dapat diterima oleh konsumen. Putri *et el*. (2014) menyatakan bahwa penambahan glukosa 2% dan sari buah jeruk berpengaruh terhadap sifat organoleptik (rasa) minuman sinbiotik cincau hijau yang dihasilkan. Namun belum diketahui apakah adanya penambahan larutan sukrosa tersebut akan mempengaruhi sifat antibakteri minuman sinbiotik tersebut. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dikaji pengaruh penambahan larutan sukrosa pada minuman sinbiotik cincau hijau terhadap sifat penghambatan senyawa antibakteri terhadap

bakteri patogen penyebab diare. Bakteri patogen yang digunakan sebagai bakteri uji adalah bakteri penyebab diare meliputi *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, dan *Bacillus cereus*).

Pada umumnya minuman sinbiotik disimpan pada suhu dingin (refrigerator) dan selama masa penyimpanan tersebut terjadi beberapa perubahan pada minuman sinbiotik. Selama penyimpanan pada suhu dingin diduga minuman sinbiotik akan mengalami perubahan karakteristik seperti daya aktivitas antibakterinya, sifat kimia, dan mikrobiologinya. Oleh karena itu dalam penelitian ini juga akan dikaji perubahan karakteristik kimia dan mikrobiologis minuman sinbiotik cincau hijau setelah penambahan larutan sukrosa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan sukrosa terhadap aktivitas antibakteri minuman sinbiotik cincau hijau selama penyimpanan pada suhu dingin.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cincau dari tanaman cincau pohon (*Premna oblongifolia Merr*), inokulum kultur murni Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus casei*) dan kultur murni bakteri penguji (*Salmonella*, *Staphylococcus Aureus*, *E. Coli*, dan *Bacillus cereus*), susu skim dan sukrosa. Bahan kimia yang digunakan seperti asam sitrat, MRS Broth, MRS Agar, Nutrient Broth merek Merck, Nutrient Agar merek Oxoid, aquadest, NaCl 0,85%, alkohol, NaOH 0,1N, indikator phenolphthlein, dan bahan analisis lainnya.

Tahapan Penelitian

Penelitian diawali dengan pembuatan ekstraksi daun cincau hijau dan persiapan starter bakteri

asam laktat berupa *Lactobacillus casei*. Pemilihan *Lactobacillus casei* didasarkan pertimbangan hasil penelitian Rizal, *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa *Lactobacillus casei* adalah bakteri asam laktat terpilih yang menghasilkan minuman probiotik terbaik dan diperkuat oleh Rizal dan Nuariny (2017) yang menyatakan bahwa *Lactobacillus casei* adalah salah satu jenis bakteri asam laktat yang bersifat probiotik karena mampu hidup dalam kondisi asam dan bersifat antagonis terhadap patogen. Tahap selanjutnya adalah proses pembuatan produk minuman sinbiotik cincau hijau. Produk minuman sinbiotik cincau hijau yang telah jadi kemudian diberi dua perlakuan yang berbeda yaitu produk tanpa penambahan larutan sukrosa dan produk dengan penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v).

Produk minuman sinbiotik cincau hijau baik dengan maupun tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) kemudian disimpan selama 28 hari. Pengamatan dilakukan setiap 7 hari sekali terhadap aktivitas antibakteri, pH, total asam tertitrasi, dan total bakteri asam laktat dari masing-masing produk. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode sumur (difusi agar). Setiap percobaan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik yang kemudian dianalisis secara deskriptif.

Pembuatan Bubuk Daun Cincau Hijau

Pembuatan bubuk daun cincau dilakukan dengan menggunakan metode Nurdin, dkk., 2004. Daun cincau yang telah diperoleh kemudian dicuci dengan air hingga bersih dan tangkainya dibuang. Daun cincau yang telah dibersihkan kemudian dipotong dengan ukuran 3 cm x 1,5 cm. Daun tersebut lalu dikeringkan

dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama kurang lebih 24 jam. Daun dianggap kering bila daun terasa renyah bila diremas. Daun cincau yang telah kering kemudian dihancurkan dengan menggunakan blender hingga menjadi bubuk.

Proses Ekstraksi Bubuk Daun Cincau

Sebanyak 25 gram bubuk daun cincau hijau dicampurkan dengan air panas (suhu $\pm 100^\circ\text{C}$) sebanyak 500 ml. Air yang akan digunakan sebelumnya ditambahkan asam sitrat 0,1% (b/v). Kemudian dilakukan pencampuran dengan stirrer ‘VWR Hot Plate’ dengan kecepatan penuh selama 15 menit untuk membantu proses ekstraksi. Campuran tersebut disaring dengan menggunakan kain saring dengan merk ‘Hero’ sambil dilakukan peremasan hingga diperoleh cairan kental ekstrak daun cincau. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya dituangkan ke dalam loyang aluminium kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 48 jam. Hasil pengeringan tersebut kemudian dihancurkan dengan menggunakan blender hingga tingkat kehalusan 80 mesh.

Persiapan Starter

Persiapan starter dilakukan dengan memodifikasi metode Rizal, *et al.* (2006). Kultur bakteri yang akan digunakan (*Lactobacillus casei*) dipindahkan dari kultur stok ke dalam tabung reaksi berisi media Broth steril, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian sebanyak 4% kultur *Lactobacillus casei* diinokulasikan ke dalam media yang mengandung susu skim steril 5% (0,5 gram susu skim dalam 10 ml aquades), kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Kultur yang dihasilkan disebut sebagai kultur induk. Selanjutnya dari kultur induk

diinokulasikan ke media yang mengandung susu skim steril yaitu sebanyak 4% (v/v) (0,4 ml kultur induk ke dalam 9,6 ml media susu skim) dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C sehingga dihasilkan kultur antara.

Kultur antara diinokulasikan sebanyak 4% (v/v) (4 ml kultur antara ditambahkan ke dalam 96 ml media susu skim) ke dalam media yang mengandung susu skim steril dengan penambahan sukrosa 3% (b/v), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk mendapatkan kultur kerja. Pada proses pembuatan minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau, kultur kerja sebanyak 4% (v/v) (4 ml kultur kerja ditambahkan ke dalam 96 ml media) akan digunakan sebagai starter atau inokulum.

Pembuatan Minuman Sinbiotik Ekstrak Daun Cincau Hijau

Pembuatan minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau dilakukan berdasarkan prosedur yang direkomendasikan oleh Nurdin dkk., (2007), dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 2% (b/v) susu skim dan 2% (b/v) sukrosa ditambahkan aquades hingga volumenya menjadi 100 ml, selanjutnya dilakukan penambahan ekstrak cincau hijau sebanyak 0,5% (b/v), kemudian campuran ini diaduk hingga rata menggunakan stirrer selama 2 menit, kemudian dipasteurisasi 80-85°C selama 15 menit, selanjutnya didinginkan hingga suhu 37°C. Inokulasikan kultur kerja *Lactobacillus casei* sebanyak 4% (v/v) dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam.

Produk minuman sinbiotik cincau hijau yang telah jadi kemudian dibagi menjadi dua yaitu produk dengan penambahan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) dan produk tanpa penambahan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v). Larutan sukrosa dengan konsentrasi 65%

(b/v) dibuat dengan cara sebanyak 65 gram gula sukrosa dilarutkan dalam 100 ml air. Larutan gula yang sudah jadi kemudian ditambahkan ke dalam beberapa produk dengan konsentrasi 10% (v/v) ke masing-masing produk (minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau).

Persiapan Bakteri Uji

Sebanyak 1-2 mata ose kultur bakteri uji diambil dari biakan agar miring Nutrient Agar (NA) atau stok bakteri kemudian digoreskan pada biakan agar miring baru dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam didapatkan inokulum yang langsung dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri produk minuman sinbiotik cincau hijau menggunakan metode sumur/difusi agar (Gariga *et. al.*, 1983; Murhadi, 2002). Pengujian dimulai dengan menyiapkan media pertumbuhan. Pembuatan media diawali dengan penimbangan media NA, lalu NA dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang selanjutnya dilakukan penambahan aquades seperti petunjuk pembuatan media pada kemasan. Kemudian dilakukan pengadukan sambil dipanaskan dengan menggunakan stirrer bar. Setelah larutan media homogen yang ditandai dengan warna larutan yang jernih, erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil, lalu dilakukan sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi media didinginkan dalam keadaan tertutup pada suhu ruang sampai suhu media NA mencapai 40°C. Pada saat suhu media mencapai 40°C, maka kultur bakteri yang telah disiapkan diinokulasikan.

Kultur bakteri yang siap untuk pengujian aktivitas antibakteri dihomogenkan dengan alat vorteks, lalu diinokulasikan sebanyak 20 µl ke

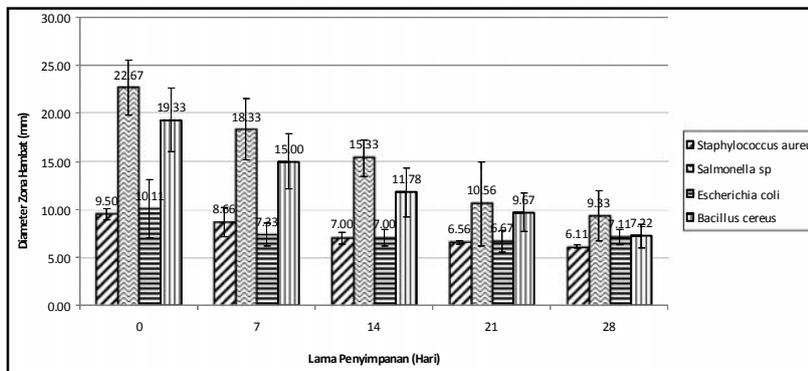
dalam erlenmeyer yang berisi 20 ml medium agar cair NA steril, dikocok merata kemudian dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan sampai membeku. Selanjutnya dibuat 3 lubang (sumur) secara aseptis dengan diameter sumur 6,0 mm (seragam). Lalu, ke dalam tiap lubang diinokulasikan dengan 60 µl minuman sinbiotik cincau hijau. Cawan-cawan petri yang telah diinokulasikan tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

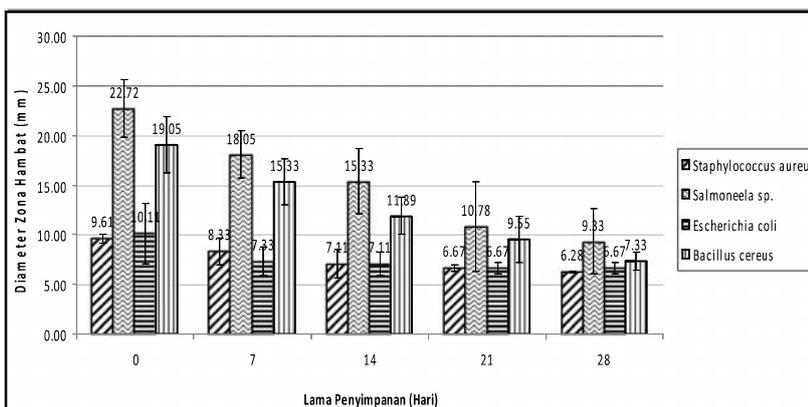
Aktivitas Antibakteri Selama Penyimpanan

Berdasarkan nilai diameter (d,mm) hasil penelitian dengan menggunakan metode difusi

agar dapat diketahui bahwa minuman sinbiotik cincau hijau baik yang diberi maupun tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen penyebab diare yang diuji, yaitu *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, dan *Escherichia coli*. Data diameter penghambatan dari minuman sinbiotik cincau hijau tanpa maupun dengan penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) terhadap beberapa bakteri patogen disajikan dalam bentuk grafik pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1 Uji Aktivitas Antibakteri Minuman Sinbiotik Cincau Hijau Tanpa Penambahan Larutan Sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v)



Gambar 2 Uji Aktivitas Antibakteri Minuman Sinbiotik Cincau Hijau dengan Penambahan Larutan Sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v)

Pada Gambar 1 dan Gambar 2 terlihat bahwa aktivitas penghambatan minuman sinbiotik terbesar terjadi pada bakteri jenis *Salmonella*. Penghambatan ini dapat dilihat dari besarnya zona bening yang dihasilkan. Semakin besar zona bening yang dihasilkan, maka semakin besar efektivitas antimikroba di dalam suatu substrat. Diameter penghambatan pada bakteri *Salmonella* berturut-turut pada penyimpanan selama 28 hari yaitu 22,67 mm; 18,33 mm; 15,33 mm; 10,56 mm; dan 9,33 mm. Hal ini dikarenakan minuman sinbiotik cincau hijau ini memiliki pH yang rendah yaitu sekitar 3,8–4,1, yang mana *Salmonella sp.* tidak mampu untuk tumbuh pada pH tersebut. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa penghambatan terbesar kedua terdapat pada *Bacillus cereus*. Diameter penghambatan pada bakteri *Bacillus cereus* pada penyimpanan selama 28 hari secara berturut-turut yaitu 19,33 mm; 15,00 mm; 11,78 mm; 9,67, dan 7,22 mm. Penghambatan selanjutnya terdapat pada bakteri *Escherichia coli (E.coli)*. Adapun nilai diameter penghambatan dari *E.coli* pada minuman sinbiotik cincau hijau tanpa penambahan larutan sukrosa 10% selama penyimpanan 28 hari adalah 10,11 mm; 7,33 mm; 7,00 mm; 6,67 mm; dan 7,11 mm.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Nurainy, *et al.* (2015) yang menyimpulkan bahwa minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau yang diberi penambahan sari buah jambu maupun sari buah nanas, memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *E.coli*, *B. cereus* dan *Salmonella sp.* Diameter penghambatan terhadap bakteri uji untuk minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas masing-masing sebesar 9,94 mm; 11,08 mm; 17,25 mm dan 18,36 mm, sedangkan diameter penghambatan minuman sinbiotik dengan penambahan sari

buah jambu bij masing-masing adalah sebesar 9,83 mm; 14,44; 18,44 mm dan 21,50 mm.

Gambar 1 dan 2 juga memperlihatkan fakta bahwa aktivitas antibakteri minuman sinbiotik cincau hijau yang diberi penambahan larutan sukrosa 65% mengalami penurunan selama penyimpanan untuk semua jenis bakteri uji yang digunakan. Fakta ini menunjukkan bahwa efektivitas atau daya hambat minuman sinbiotik terhadap bakteri patogen penyebab diare mengalami penurunan selama penyimpanan pada suhu dingin. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Nurainy, *et al.* (2017) yang menyatakan terjadi penurunan aktivitas antibakteri, pH dan total bakteri asam laktat pada minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau baik tanpa maupun dengan penambahan sari buah jambu biji atau nanas sebanyak 15% (v/v) seiring waktu penyimpanan pada suhu dingin hingga 28 hari, sedangkan total asam mengalami peningkatan.

Penelitian ini menunjukkan bahwa penyimpanan yang dilakukan terhadap minuman sinbiotik cincau hijau baik tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) maupun dengan penambahan larutan sukrosa 10% selama 28 hari mempengaruhi efektivitas dari senyawa antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri cenderung mengalami penurunan selama penyimpanan. Hal ini disebabkan, selama penyimpanan kemampuan senyawa antibakteri yang terkandung semakin melemah. Hasil ini sama dengan hasil penelitian Mirdalisa, *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa aktivitas antibakteri susu fermentasi *Lactobacillus casei* terhadap *S. aureus* mengalami penurunan selama penyimpanan pada suhu dingin hingga 45 hari pada suhu 5° C dan -5° C.

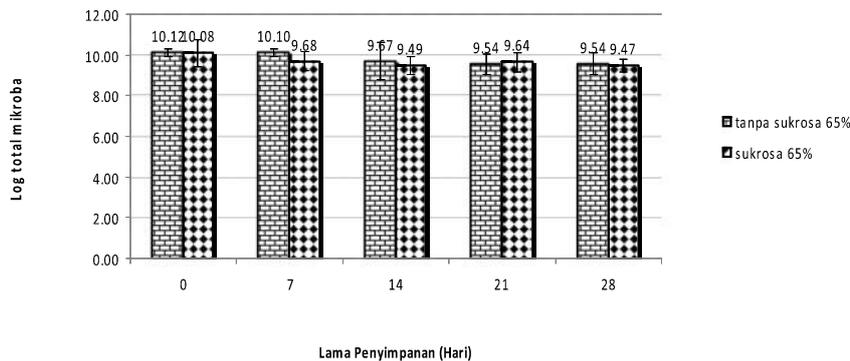
Total Bakteri Asam Laktat Selama Penyimpanan

Hasil penilaian total bakteri asam laktat minuman sinbiotik cincau hijau baik yang diberi penambahan maupun yang tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) dapat dilihat pada Gambar 3. Minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) yang mengalami penyimpanan selama 28 hari didapatkan hasil log total bakteri asam laktat rata-rata secara berturut-turut sebesar 10,08; 9,68; 9,49; 9,63; dan 9,47 atau setara dengan $1,2 \times 10^{10}$ cfu/ml; $4,8 \times 10^9$ cfu/ml; $3,1 \times 10^9$ cfu/ml; $4,3 \times 10^9$ cfu/ml; dan $3,0 \times 10^9$ cfu/ml. Sementara itu, log total bakteri asam laktat rata-rata yang dihasilkan dari minuman sinbiotik tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) pada penyimpanan 0, 7, 14, 21, dan 28 hari secara berturut-turut yaitu sebesar 10,12; 10,10; 9,67; 9,54; dan 9,54 atau setara dengan $1,3 \times 10^{12}$ cfu/ml; $1,3 \times 10^{12}$ cfu/ml; $4,7 \times 10^9$ cfu/ml; $3,5 \times 10^9$ cfu/ml; dan $3,5 \times 10^9$ cfu/ml.

Gambar 3 menunjukkan terjadinya penurunan jumlah bakteri asam laktat selama penyimpanan. Penurunan ini disebabkan berkembangbiakan

dan kemampuan bertahan hidup bakteri asam laktat cenderung menurun dengan tajam karena telah terjadi kompetisi antara bakteri asam laktat. Selain itu hasil-hasil metabolisme mikroba itu sendiri kemungkinan beracun, sehingga dapat menjadi penyebab kematian sel. Bila dibandingkan antara total bakteri asam laktat minuman sinbiotik cincau hijau yang diberi penambahan larutan sukrosa 10% dengan tanpa penambahan larutan sukrosa 10%, selama penyimpanan tidak ada perbedaan total bakteri asam laktat yang signifikan. Penelitian Nurainy, et al. (2017) juga menyatakan terjadi penurunan total bakteri asam laktat pada minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau baik tanpa maupun dengan penambahan sari buah jambu biji atau nanas sebanyak 15% (v/v) seiring waktu penyimpanan pada suhu dingin hingga 28 hari.

Gambar 3 juga menunjukkan bahwa minuman sinbiotik cincau hijau baik dengan maupun tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) memiliki nilai total bakteri asam laktat yang relatif sama selama penyimpanan. Maka dapat disimpulkan bahwa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) untuk meningkatkan penerimaan konsumen terhadap minuman sinbiotik cincau



Gambar 3 Perbandingan Total Bakteri Asam Laktat Minuman Sinbiotik Cincau Hijau Tanpa Atau Dengan Penambahan Larutan Sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v)

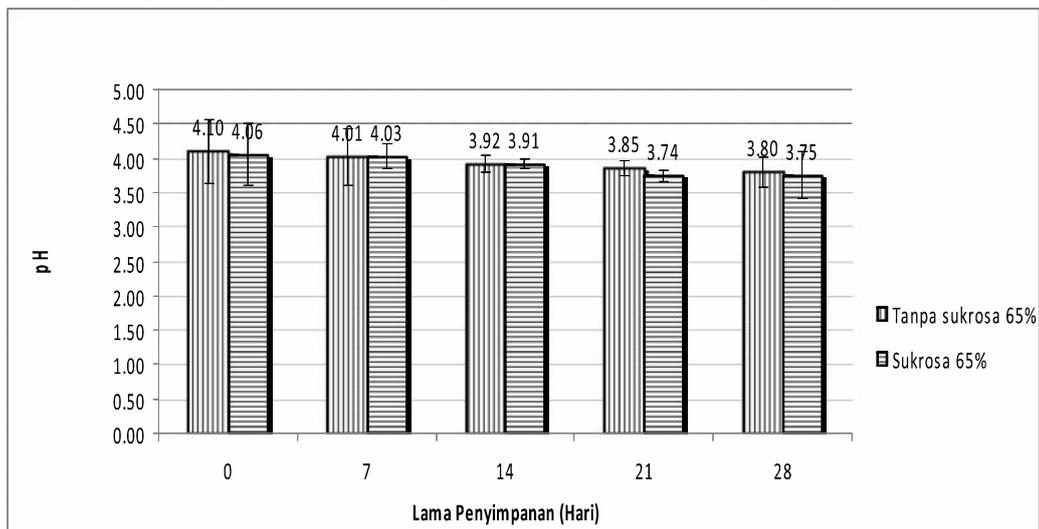
hijau tidak memberikan efek perubahan yang signifikan terhadap jumlah bakteri asam laktat di dalamnya.

Nilai pH (Derajat Keasaman) Selama Penyimpanan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH rata-rata dari minuman sinbiotik tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) pada penyimpanan 0, 7, 14, 21, dan 28 hari secara berturut-turut adalah 4,10; 4,01; 3,92; 3,85, dan 3.80. Dari penelitian pula didapatkan hasil bahwa pH rata-rata dari minuman sinbiotik dengan penambahan larutan sukrosa 10% pada penyimpanan 0, 7, 14, 21, dan 28 hari secara berturut-turut adalah 4,06; 4,03; 3,91; 3,74; dan 3,75. Nilai pH minuman sinbiotik cincou hijau baik dengan maupun tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) disajikan dalam Gambar 4.

Gambar 4 memperlihatkan bahwa pH minuman sinbiotik cincou hijau dengan penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) selama penyimpanan relatif tidak berubah. Selama penyimpanan, dapat diketahui bahwa

pH minuman sinbiotik cincou hijau dengan penambahan larutan sukrosa 10% juga mengalami penurunan pH selama penyimpanan. Dalam pembuatan minuman sinbiotik cincou hijau ini, terjadi proses fermentasi. Penurunan pH terjadi akibat pemecahan polimer pektin cincou, sukrosa, dan laktosa menjadi monomer yang lebih sederhana dan memicu terbentuknya asam-asam organik oleh bakteri asam laktat. Penguraian senyawa-senyawa oleh bakteri asam laktat akan menghasilkan energi untuk bakteri asam laktat, serta menghasilkan senyawa-senyawa lain termasuk asam laktat. Dengan meningkatnya jumlah asam yang disekresikan tersebut, maka keasaman minuman sinbiotik cincou pun akan meningkat, dan peningkatan akumulasi asam ini akan menyebabkan terjadinya penurunan pH (Widowati dan Misgiyarta, 2003). Penelitian ini sama dengan hasil Nurainy, et al. (2017) yang menyatakan terjadi nilai pH pada minuman sinbiotik ekstrak cincou hijau baik tanpa maupun dengan penambahan sari buah jambu biji atau nanas sebanyak 15% (v/v) seiring waktu penyimpanan pada suhu dingin hingga 28 hari.



Gambar 4 Perbandingan Nilai pH minuman Sinbiotik Cincou Hijau Tanpa atau dengan Penambahan Larutan Sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v)

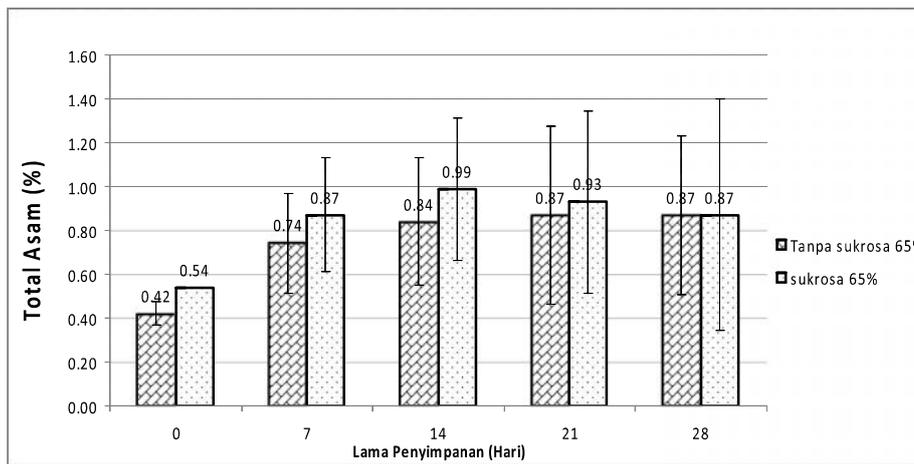
Gambar 4 menunjukkan bahwa penambahan larutan sukrosa sebanyak 10% tidak memberikan efek yang signifikan terhadap perubahan derajat keasaman produk selama penyimpanan pada suhu dingin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH pada minuman sinbiotik cincau hijau tanpa penambahan larutan sukrosa 10% berada pada kisaran 3,8–4,1, sedangkan pada minuman sinbiotik cincau hijau berada pada rentang kisaran 3,7–4,1. Pada pH tersebut, minuman sinbiotik cincau hijau ini dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, dan *Bacillus* melalui antibakteri yang dihasilkan oleh *Lactobacillus* berupa asam laktat.

Total Asam Selama Penyimpanan

Pada penelitian, total asam yang didapatkan dari tiga kali ulangan kemudian dirata-ratakan untuk memperoleh nilai tengah dari masing-masing produk selama penyimpanan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total asam rata-rata dari minuman sinbiotik tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) pada penyimpanan 0, 7, 14, 21, dan 28 hari

secara berturut-turut adalah 0,42; 0,74; 0,84; 0,87; dan 0,87. Untuk total asam rata-rata dari minuman sinbiotik dengan penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) pada penyimpanan 0, 7, 14, 21, dan 28 hari secara berturut-turut adalah 0.54, 0.87, 0.99, 0.93, dan 0.87. Nilai total asam pada minuman sinbiotik cincau hijau baik tanpa maupun dengan penambahan larutan sukrosa 65% sebanyak 10% selama penyimpanan disajikan dalam Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan, maka total asam dari minuman sinbiotik cincau hijau tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) mengalami peningkatan. Hal ini disebabkan bakteri asam laktat menghasilkan asam organik yang semakin tinggi selama penyimpanan. Sementara Gambar 5 menunjukkan bahwa minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan larutan sukrosa 10% antar penyimpanan memiliki nilai total asam yang hampir relatif sama. Data yang didapat, diketahui bahwa total asam pada minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan larutan sukrosa 10% mengalami peningkatan



Gambar 5 Perbandingan Nilai Total Asam Minuman Sinbiotik Cincau Hijau Tanpa Atau dengan Penambahan Larutan Sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v)

hingga hari penyimpanan ke-14 dan selanjutnya mengalami penurunan. Penurunan pH tetap terjadi setelah hari ke-14 walaupun total asam juga semakin menurun. Hal ini terjadi sebagai akibat terakumulasinya total asam, namun sebagian besar bukan lagi berupa asam laktat melainkan asam-asam lemah rantai pendek seperti asam asetat, propionat, dan butirat yang merupakan hasil hidrolisis asam laktat (Jamain, 2009). Hasil ini sesuai dengan penelitian Nurainy, et al. (2017) bahwa selama penyimpanan pada suhu dingin hingga 28 hari, terjadi peningkatan total asam pada minuman sinbiotik cincau hijau yang diberi penambahan sari buah sebesar 15%.

Perbandingan total asam laktat minuman sinbiotik cincau hijau antara yang diberi penambahan dan tanpa penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) ditunjukkan oleh Gambar 5 yang menunjukkan adanya peningkatan total asam laktat yang relatif sama selama penyimpanan. Akan tetapi, jika dibandingkan antara keduanya, terlihat bahwa total asam laktat pada minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan larutan sukrosa 10% memiliki nilai yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan tanpa penambahan larutan sukrosa 10%. Ini menunjukkan penambahan sukrosa berpengaruh terhadap produksi asam laktat karena salah satu sumber pembentukan asam laktat adalah ketersediaan glukosa yang berasal dari penguraian sukrosa selama fermentasi oleh bakteri asam laktat. Dalam penelitian ini, laju peningkatan total asam berbanding lurus dengan laju penurunan pH.

KESIMPULAN

Aktivitas antibakteri, pH, dan total bakteri asam laktat minuman sinbiotik cincau hijau baik tanpa maupun dengan penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) mengalami

penurunan seiring lamanya waktu penyimpanan, sedangkan total asam mengalami peningkatan seiring lamanya waktu penyimpanan. Penghambatan pertumbuhan terbesar oleh minuman sinbiotik cincau hijau baik tanpa maupun dengan penambahan larutan sukrosa terdapat pada bakteri *Salmonella sp.* Penghambatan terendah oleh minuman sinbiotik cincau hijau tanpa penambahan larutan sukrosa terdapat pada bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan penghambatan terendah dengan penambahan larutan sukrosa terdapat pada bakteri *Escherichia coli*.

Penambahan larutan sukrosa 65% (b/v) sebanyak 10% (v/v) pada minuman sinbiotik cincau hijau yang dilakukan dalam rangka meningkatkan kesukaan selama penyimpanan tidak menimbulkan efek perubahan yang signifikan terhadap aktivitas antibakteri, pH, total asam, dan total bakteri asam laktat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, A., Widyawati, N., Suprihati. 2014. *Pengaruh Dosis Ragi dan Penambahan Gula terhadap Kualitas Gizi dan Organoleptik Tape Biji Gandum*. AGRIC Vol.26 (1): 75 - 84
- Elsaputra., Pato, U., Rahmayuni. 2016. *Pembuatan Minuman Probiotik Berbasis Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) Menggunakan *Lactobacillus Casei* Subsp. *casei* R-68 yang Diisolasi dari Dadih*. Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau. Vol.3 (1): 1-9.
- Gariga, M., Hugas, M., Aymerich, T., Monfort, J.M. 1983. *Bacteriogenic Activity of Lactobacilli From Fermented Sausage*. App. Bacetriol. 75:142-148.

- Jamain, Rozi A. 2009. *Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Minuman Sinbiotik Dari Ekstrak Daun Cincau Hijau (Premna oblongifolia Merr.)*. Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 63 hlm.
- Lukman, A.A.S. 1984. *Pengaruh Bubuk Rimpang Kunyit (Curcuma domestica Val.) dan Bubuk Residu Ekstraknya Terhadap Pertumbuhan Beberapa Bakteri Basili Gram positif*. Skripsi Sarjana. Fateta-IPB.
- Mirdalisa, C.A., Zakaria, Y., Nurliana. 2016. *Efek Suhu dan Masa Simpan Terhadap Aktivitas Antimikroba Susu Fermentasi dengan Lactobacillus casei*. Agripet Vol 16 (1): 49-55.
- Murhadi. 2002. *Isolasi dan Karakteristik Komponen Antibakteri dari Biji Atung*. Disertasi. Program Pasca Sarjana. IPB. Bogor. 192 hlm.
- Nurdin, S.U., A.S. Zuidar, R. Krisnawati. 2004. *Pengaruh Konsentrasi Asam Sitrat Terhadap Rendemen dan Sifat Serat Pangan dari Daun Cincau Pohon (Premna oblongifolia Merr.)*. Prosiding Seminar Nasional dan Kongres PATPI. Jakarta, 17-18 Desember 2004.
- Nurainy, F., Nurdin, S.U. 2007. *Produksi Minuman Sinbiotik dari Ekstrak Cincau Hijau (Premna oblongifolia Merr.) Sebagai Minuman Fungsional*. Laporan Penelitian Dosen Muda. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 52 hlm.
- Nurainy, F., Rizal, S., Suharyono. 2015. *Aktivitas Antibakteri dan Evaluasi Pengaruh Minuman Sinbiotik Ekstrak Cincau dengan Penambahan Sari Buah terhadap Kualitas Mikroflora Pencernaan*. Prosiding Seminar Nasional PATPI 2015. Pp 774-785.
- Nurainy, F., Rizal, S., Suharyono, Destiayi, N. 2017. *Aktivitas Antibakteri dan Karakteristik Minuman Sinbiotik Ekstrak Cincau Hijau dengan Penambahan Sari Buah nanas dan Jambu biji selama Penyimpanan Dingin*. Prosiding Seminar Nasional BKS PTN Wilayah Barat Bidang Pertanian 2017. Hal. 1186-1195.
- Putri, A., Hanum, T., Rizal, S., Setyani, S. 2014. *Pengaruh Penambahan Glukosa dan Sari Buah Jeruk (Citrus sinensis) terhadap Karakteristik Minuman Sinbiotik Cincau Hijau (Premna oblongifolia Merr.)*. Jurnal Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian Vol. 19 (1): 104-116.
- Roos, N.M., M.B.Katan. 2000. *Effect of Probiotic Bacteria on Diarrhea, Lipid Metabolism, and Carcinogenesis: A Review of Papers Published Between 1988 and 1998*. American Journal of Clinical Nutrition. Vol. 71(2):405-411.
- Rizal, S., Marniza, Nurdin, S.U. 2006. *Optimasi Proses Pengolahan Minuman Probiotik dari Kulit Nenas dan Pengaruhnya Terhadap Mikroflora Usus Besar Tikus Percobaan*. Laporan Akhir Penelitian. TPSDP Unila. Bandar Lampung. 50 hlm.
- Rizal, S., Marniza, Nurdin, S.U. 2007. *Kajian Potensi Probiotik Minuman Laktat Sari Kulit Nenas yang Difermentasi oleh Lactobacillus acidophilus Secara In Vivo*. Jurnal Agritek. 15 (4): 817-821.

- Rizal, S., Kustyawati, M.E., Nuariny, F. dan Tambunan, A.R. 2016. *Karakteristik Probiotik Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas dengan Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat*. Indones. Indonesian Journal of Applied Chemistry. Vol 18 (1). Pp. 63-71.
- Rizal, S. dan Nurainy, F. 2017. *Ketahanan terhadap Kondisi pH Asam dan Aktifitas Antagonis terhadap Bakteri Patogen Empat Jenis Bakteri Asam Laktat*. Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Lampung 07 September 2017 ISBN 978-602-70530-6-9 . Pp 134-139.
- Shofi S. D. 2012. *Pengaruh Suhu dan pH Dalam Pembuatan Minuaman Probiotik Sari Buah Nanas (Ananas Comosus) dengan Starter Lactobacillus bulgaricus Menggunakan Alat Fermentor*. (Skripsi). Universitas Diponegoro. Semarang. 128 hlm.
- Volk and Wheelere. 1993. *Basic Microbiology*. Fifth Edition. Harper and Row Publisher Inc. New Jersey, Emeritus. 396 pp.
- Widowati, S., Misgiyarta. 2003. *Efektivitas Bakteri Asam Laktat Dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein atau Susu Nabati*. Prosiding Seminar hasil Pertanian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Hal 360-372.
