

# Aktivitas Antibakteri dan Karakteristik Minuman Sinbiotik Ekstrak Cincau Hijau dengan Penambahan Sari Buah nanas dan Jambu biji selama Penyimpanan Dingin

Fibra Nurainy\*, Samsul Rizal\*, Suharyono\*, Nyoman Destiyani\*\*

\*) Staf pengajar jurusan THP FP Unila, \*\*) Alumni jurusan THP FP Unila

Pengembangan minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dilakukan dengan penambahan sari buah jambu biji dan sari buah nanas. Penambahan sari buah selain menambah aroma dan citarasa juga diharapkan dapat meningkatkan sifat antibakteri minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau yang dihasilkan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan karakteristik minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas dan jambu biji selama penyimpanan dingin.

Minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dibuat dengan penambahan sari buah nanas dan sari buah jambu biji sebanyak 15 % (v/v), diinokulasi dengan kultur *L. casei* dan diinkubasi selama 48 jam, selanjutnya dilakukan penyimpanan dingin selama 28 hari untuk dianalisis total bakteri asam laktat, pH, total asam dan aktivitas antibakteri terhadap *B. Cereus* dan *Salmonella typhi* setiap 7 hari. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan 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 seiring waktu penyimpanan pada suhu dingin hingga 28 hari, sedangkan total asam mengalami peningkatan. Minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji merah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* yang lebih tinggi dibandingkan sari buah nanas *maupun tanpa penambahan sari buah*. Daya hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau baik tanpa ataupun dengan penambahan sari buah jambu biji dan nanas terhadap *Salmonella typhi* lebih tinggi dibandingkan *Bacillus cereus*.

*Kata kunci : minuman sinbiotik , ekstrak cincau hijau, sari jambu, sari nanas, aktivitas antibakteri*

## Pendahuluan

Sinbiotik adalah campuran prebiotik (komponen yang dapat menjadi substrat bakteri yang menguntungkan) dan probiotik (bakteri hidup yang memiliki efek menguntungkan) yang memberikan pengaruh kesehatan (Winarti, 2010). Mekanisme penting dari pengaruh sinbiotik adalah pengaruhnya terhadap mikroflora pencernaan (Collins dan Gibson, 1999). Penyakit infeksi usus karena ketidakseimbangan mikroflora usus diketahui dapat ditekan dengan mengonsumsi minuman sinbiotik. Bakteri asam laktat yang terkandung di dalam produk dapat bertahan hidup hingga saluran pencernaan dan dapat menekan bakteri penyebab diare.

Minuman sinbiotik cincau hijau merupakan minuman fungsional dari ekstrak daun cincau hijau yang difermentasi oleh bakteri asam laktat. Penambahan asam sitrat pada proses ekstraksi cincau hijau akan mempengaruhi viskositas, daya serap air, dan daya kembang ekstrak yang dihasilkan, sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dan karakteristik fungsional yang menguntungkan (Fitriani, 2013). Daun cincau hijau juga mengandung senyawa antioksidan dan antibakteri yaitu flavonoid, polifenol dan alkaloid (Chalid, 2002). Untuk memperbaiki karakteristik sensori dan juga sebagai antibakteri maka ditambahkan sari buah jambu biji (*Psidium guajava* L) dan nanas (*Ananas comosus*). Menurut Anggraini (2006) , jambu biji kaya akan astringent yang bersifat alkali dan memiliki manfaat sebagai desinfektan dan antibakteri, sehingga membantu penyembuhan diare atau disentri yang disebabkan oleh pertumbuhan mikroba. Selain itu, nutrisi lain dalam jambu biji, seperti vitamin C, karotenoid dan kalium mampu mencegah infeksi, memperkuat dan meremajakan sistem pencernaan. Selain jambu biji, nanas juga memiliki kandungan yang menyumbangkan zat antibakteri untuk kesehatan. Kandungan flavonoid, polifenol dan saponin yang dimiliki nanas mampu bersifat sebagai antibakteri yang baik dalam pencernaan (Daniswara, 2008). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan karakteristik minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas dan jambu biji selama penyimpanan dingin.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun cincau dari tanaman cincau pohon (*Premna oblongifolia* Merr) yang dipetik mulai dari daun ke 5 ke arah pangkal yang diperoleh dari Daerah Way Halim, Bandar Lampung. Buah nanas (*Ananas comosus*) dan jambu biji (*Psidium guajava* L) dengan tingkat kematangan mature yang diperoleh dari pasar tradisional. Inokulum kultur murni *Lactobacillus casei* FNCC 0900 diperoleh dalam bentuk murni, diperoleh dari PAU pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Susu skim, sukrosa dan asam sitrat diperoleh dari Supermarket. Glukosa diperoleh dari Toko Kimia. Bahan analisis yang digunakan adalah medium *Nutrien Agar* (NA), medium *Nutrient Broth* (NB), akuades steril, metanol, glukosa dan bahan analisis lainnya.

Alat-alat yang digunakan antara lain timbangan analitik dua digit (Mettler PJ 3000), laminary flow (merk Esco), oven (Heraeus dan Philips Harris Ltd), blender (Sharp), inkubator (Memmert), pH meter (Hanna Instruments 8424), autoclave (Wise Calve, Daihan Scientific),

colony counter (Stuart Scientific), mikropipet (Thermo Scientific), pipet tip, sendok, baskom plastic, pisau stainless steel, loyang aluminium, kain saring (Hero), botol UC, spatula, jarum ose, jangka sorong, aluminium foil, bunsen, kapas, tisu, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, dan alat-alat gelas lainnya untuk analisis kimia dan mikrobiologi.

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan data kuantitatif karakteristik minuman sinbiotik dan aktivitas antibakteri minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas dan penambahan sari buah jambu biji selama penyimpanan terhadap bakteri patogen *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus*. Kedua produk disimpan selama 28 hari dalam suhu dingin untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan. Produk diamati setiap 7 hari sekali terhadap aktivitas antibakteri, total bakteri asam laktat, pH, dan total asam dari masing-masing produk. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada kedua bakteri patogen yaitu *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus* dengan menggunakan metode sumur atau difusi agar. Pengujian dilakukan secara duplo dengan dua kali ulangan dan hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel serta grafik yang kemudian dianalisis secara deskriptif.

### **Pelaksanaan Penelitian**

#### **A. Pembuatan ekstrak daun Cincau**

Penelitian diawali dengan pembuatan tepung daun cincau dengan menggunakan metode Nurdin dkk. (2004) yang dimodifikasi. Daun cincau yang telah dibersihkan, dipotong ukuran  $\pm 3$  cm x 1,5 cm dan tangkainya dibuang, dioven pada suhu 50° C selama sekitar 24 jam, kemudian dihancurkan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Selanjutnya dilakukan ekstraksi tepung daun cincau. Sebanyak 25 g tepung daun cincau pohon dicampurkan dengan air panas ( suhu  $\pm 100^\circ$  C) sebanyak 500 ml yang sebelumnya ditambahkan asam sitrat 0,1 (b/v). Kemudian dilakukan pencampuran dengan stirrer dengan kecepatan penuh selama 15 menit untuk membantu proses ekstraksi. Setelah itu campuran tersebut disaring dengan menggunakan kain saring hingga diperoleh cairan kental ekstrak daun cincau. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 48 jam.

#### **B. Proses persiapan starter**

Persiapan starter dilakukan dengan memodifikasi metode Rizal dkk. (2006), yaitu kultur bakteri yang akan digunakan (*Lactobacillus Casei*) masing-masing seluruhnya dipindahkan ke tabung reaksi berisi media MRS Broth steril. Dari MRS Broth steril sebanyak

1 sampai 2 ose ditumbuhkan ke dalam susu skim 5 persen (b/v) yang telah disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit dan diinkubasi selama dua hari pada suhu 37 °C. Kultur ini disebut kultur induk. Selanjutnya dari kultur induk diinokulasikan ke media yang sama yaitu sebanyak 4 persen (v/v) (yang dimodifikasi) selama 48 jam pada suhu 37 °C sehingga dihasilkan kultur antara. Kemudian kultur antara diinokulasikan sebanyak 4 persen (v/v) (yang dimodifikasi) ke dalam media yang sama dengan penambahan sukrosa 3 persen (b/v) untuk mendapatkan kultur kerja. Pada proses pembuatan minuman sinbiotik, kultur kerja sebanyak 4 persen (v/v) akan digunakan sebagai starter atau inokulum.

### **C. Pembuatan Sari Buah Nanas dan Jambu biji merah Biji**

Buah nanas mula-mula dikupas kulitnya dan dibersihkan mata nanasnya lalu dicuci. Setelah itu daging buah nanas diblanching pada suhu 76<sup>0</sup>C selama 5 menit. Dilakukan penghancuran dengan diparut selama 40 detik, kemudian dilakukan penyaringan sehingga diperoleh sari buah nanas.

Buah jambu biji merah biji mula-mula dikupas kulitnya lalu dicuci. Setelah itu daging buah jambu biji merah biji diblanching pada suhu 76<sup>0</sup>C selama 5 menit. Dilakukan penghancuran dengan diparut, ditambahkan air dengan perbandingan 1:1, kemudian dilakukan penyaringan sehingga diperoleh sari buah jambu biji merah biji.

### **D. Pembuatan minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau dengan dikombinasikan dengan sari buah nanas atau sari buah jambu biji merah biji**

Sebanyak 2% (b/v) susu skim dan 2 % (b/v) glukosa, ditambah ekstrak cincau hijau sebanyak 0,5% (b/v), dilakukan penambahan sari buah jambu biji merah biji atau sari buah nanas ke dalam masing-masing fermentor dengan konsentrasi 15 (b/v), selanjutnya dilakukan penambahan aquades hingga volumenya menjadi 115,2 ml kemudian campuran ini diaduk hingga rata menggunakan spatula kaca selama 30 detik, kemudian dipasteurisasi 76 °C selama 15 menit, selanjutnya didinginkan hingga suhu 37 °C. Kultur kerja *Lactobacillus casei* diinokulasi sebanyak 4% (v/v) dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 48 jam.

#### **Pengamatan yang dilakukan :**

##### **1. Pengujian aktivitas antibakteri.**

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumur (Murhadi, 2002). Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan prosedur berikut (Murhadi, 2009a). Kultur bakteri yang murni dari media broth dipindahkan ke dalam tabung yang berisi medium cair steril NB seperti yang telah dibuat sebelumnya secara aseptis, diinkubasi selama 24 jam pada

suhu 37<sup>0</sup>C dan dihomogenkan dengan vorteks. Kultur tersebut diinokulasikan sebanyak 40μL ke dalam erlenmeyer yang telah berisi 60mL medium Natrium Agar (NA) steril dengan suhu 44-45<sup>0</sup>, dihomogenisasi lalu dituang ke dalam empat cawan petri steril secara merata dan dibiarkan hingga membeku. Selanjutnya dibuat empat lubang (sumur) dalam setiap cawan secara aseptis dengan diameter yang seragam 6 mm dan dimasukkan 60μL produk minuman sinbiotik cincau hijau yang sudah diberi penambahan sari buah nanas dan jambu biji masing-masing dan sebagai pembanding diinokulasikan sebanyak 60μL minuman sinbiotik cincau hijau tanpa penambahan sari buah ke dalam sumur uji lain pada cawan yang berbeda. Sumur uji diinkubasi selama 48jam pada suhu 37<sup>0</sup>C untuk diukur zona penghambatannya.

## **2.Total Asam Laktat**

Pengujian total asam laktat ditentukan dengan metode AOAC (2000). Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan 9 ml air destilat. Campuran tersebut kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N. Untuk mengamati perubahan warna menjadi merah muda digunakan phenolphthalein sebagai indikator titik akhir titrasi.

Total asam tertitrasi ditentukan sebagai asam laktat dengan persamaan :

$$\text{Total asam laktat (\% b/v)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{BM A.laktat} \times \text{FP}}{\text{Volume sampel (ml)}}$$

## **3.Derajat Keasaman (pH)**

Nilai pH ditentukan dengan menggunakan pH meter. Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter harus dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan buffer 4,0 dan 7,0. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap larutan sampel dengan mencelupkan elektrodanya ke dalam larutan sampel dan dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.

## **4.Total Bakteri Asam Laktat**

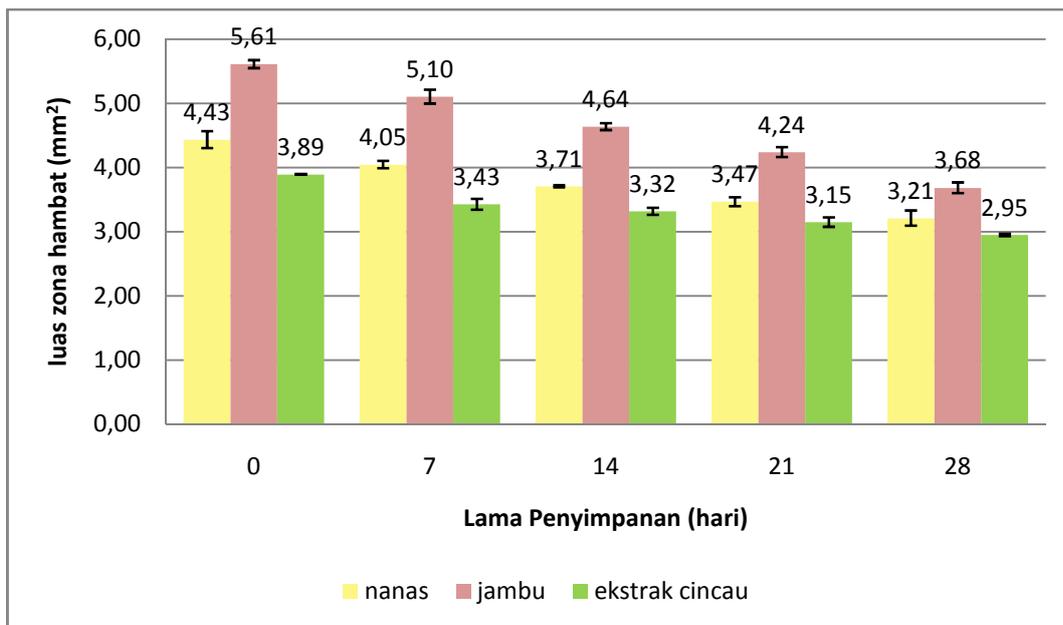
Penentuan total BAL dilakukan dengan menggunakan metode hitungan cawan (Fardiaz dkk, 1989). Sampel diencerkan, dari pengenceran yang dikehendaki diambil 1 ml sampel lalu dimasukkan ke dalam cawan petri steril, selanjutnya ditambahkan kira-kira 10-15 ml media MRS Agar steril. Cawan yang telah berisi media dan sampel ini diratakan dengan cara menggerakkan secara vertikal membentuk angka 8 dan biarkan sampai membeku, kemudian cawan diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam dan dihitung koloni yang tumbuh dengan menggunakan alat penghitung koloni (*colony counter*). Total koloni

yang terhitung harus memenuhi standar “*International Comission Microbiology Food*” (ICMF) yaitu antara 30 sampai dengan 300 koloni per cawan petri .

## Hasil dan Pembahasan

### A. Aktivitas antibakteri

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan berdasarkan luas zona hambat dengan menggunakan metode difusi agar. Semakin besar zona hambat menunjukkan semakin tinggi aktivitas antibakteri minuman sinbiotik yang diuji. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri patogen penyebab diare, yaitu *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus*. Hasil penelitian menunjukkan data luas zona hambat minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah terhadap bakteri *Salmonella typhi* selama penyimpanan 28 hari dapat dilihat pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Histogram perbandingan luas zona hambat antibakteri minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan dan tanpa penambahan sari buah nanas dan jambu biji terhadap bakteri *Salmonella typhi* selama penyimpanan dingin.

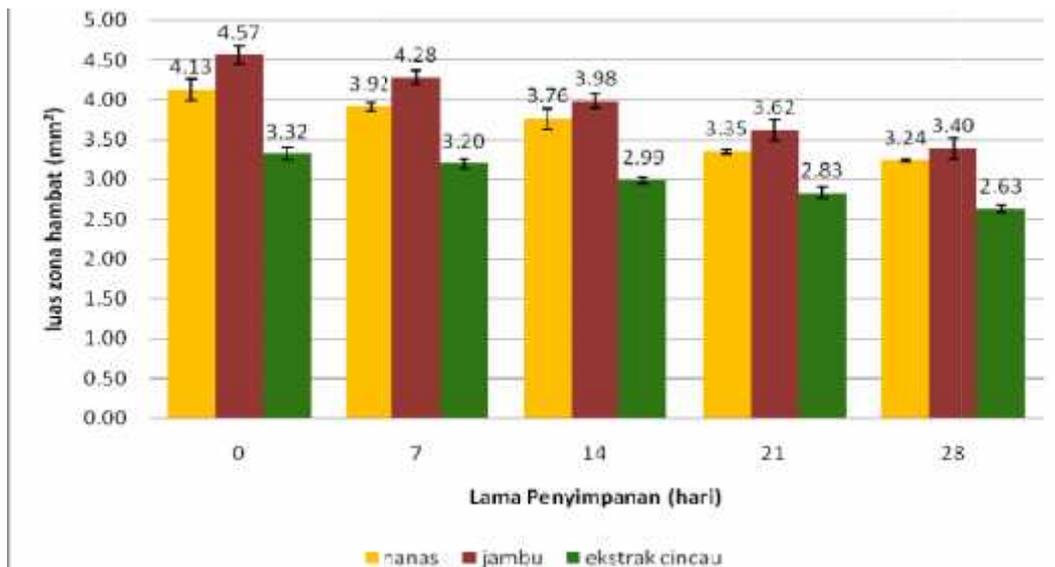
Dari Gambar terlihat terjadi penurunan luas zona hambat yang dihasilkan dari minuman sinbiotik terhadap bakteri *Salmonella typhi* seiring lama penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama produk disimpan, aktivitas antibakteri produk tersebut akan semakin menurun. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa produk minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji memiliki aktivitas antibakteri yang paling tinggi

dibandingkan dengan penambahan sari buah nanas dan tanpa penambahan. Luas zona hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji selama hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 berturut-turut yaitu 5,61cm<sup>2</sup>; 5,10 cm<sup>2</sup>; 4,64 cm<sup>2</sup>; 4,24 cm<sup>2</sup>; dan 3,68 cm<sup>2</sup>. Sedangkan aktivitas antibakteri yang lebih rendah terlihat dari luas zona hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas selama hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 berturut-turut yaitu 4,43cm<sup>2</sup>; 4,05 cm<sup>2</sup>; 3,71 cm<sup>2</sup>; 3,47 cm<sup>2</sup>; dan 3,21 cm<sup>2</sup>. Namun aktivitas antibakteri produk dengan penambahan sari buah lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa penambahan sari buah.

Perbedaan aktivitas antibakteri yang ditunjukkan produk dengan sari buah jambu biji dan sari buah nanas dikarenakan kandungan buah jambu biji yang memiliki vitamin A dan vitamin C yang lebih unggul dibandingkan buah nanas. Vitamin C memiliki aktivitas biologi yang sangat baik sebagai antioksidan yang dapat meningkatkan daya antibakteri. Asam-asam organik yang tinggi tersebut diimbangi dengan kandungan gula yang lebih tinggi dibandingkan buah nanas. Kandungan gula jambu biji sebesar 3,71% (Winarti, 2010) dan kandungan gula buah nanas sebesar 2,70% (Asiedu, 2009).

Kandungan gula tinggi menjadi nutrisi yang baik untuk BAL melakukan fermentasi laktat dalam pembuatan minuman sinbiotik. Asam yang dihasilkan dari proses fermentasi tersebut akan mempengaruhi pH lingkungan dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Dengan demikian aktivitas antibakteri meningkat dengan adanya penambahan sari buah pada produk minuman sinbiotik. Selain itu, kandungan astringent dalam jambu biji bersifat alkali dan memiliki kemampuan desinfektan serta antibakteri, sehingga membantu penyembuhan disentri karena mikroba dengan cara menghambat pembentukan lendir lendir dari aktifitas bakteri penyebab disentri di usus (Arianingrum, 2010).

*Salmonella typhi* merupakan jenis bakteri yang hanya dapat tumbuh di lingkungan dengan kondisi pH 4,1-9,0 dengan pH optimum 6,5-7,5. Minuman sinbiotik yang dihasilkan memiliki rentang pH 3,5-4,1 yang artinya sangat rendah untuk *Salmonella* bertahan hidup (Simanjuntak, 1993). Hal tersebut membuat pertumbuhan hidupnya terhambat yang ditandai dengan besarnya zona bening yang dihasilkan. Selain itu, *Salmonella* juga memiliki dinding sel yang tipis yang membuat mudahnya senyawa antimikroba pada substrat menembus dinding plasma sel bakteri. Hal yang sama juga ditunjukkan dari hasil pengujian aktivitas antibakteri produk minuman sinbiotik terhadap bakteri *Bacillus cereus*. Luas zona hambat terhadap *Bacillus cereus* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Perbandingan luas zona hambat antibakteri minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan dan tanpa penambahan sari buah nanas dan jambu biji terhadap bakteri *Bacillus cereus* selama penyimpanan dingin.

Hasil penelitian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus* menunjukkan bahwa luas zona hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji selama hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 berturut-turut yaitu 4,57cm<sup>2</sup>; 4,28 cm<sup>2</sup>; 3,98 cm<sup>2</sup>; 3,62 cm<sup>2</sup>; dan 3,40 cm<sup>2</sup>. Sama halnya *Salmonella*, aktivitas antibakteri minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas terhadap *Bacillus cereus* juga menunjukkan hasil yang lebih rendah. Terlihat dari luas zona hambat selama hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 berturut-turut yaitu 4,13cm<sup>2</sup>; 3,92 cm<sup>2</sup>; 3,76 cm<sup>2</sup>; 3,35 cm<sup>2</sup>; dan 3,24 cm<sup>2</sup>. Seperti halnya pengujian terhadap *Salmonella typhi*, pengujian pada *Bacillus cereus* juga menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri minuman sinbiotik cincau hijau sari buah jambu biji lebih tinggi dibandingkan minuman sinbiotik cincau hijau sari buah nanas. *Bacillus cereus* merupakan bakteri patogen penyebab penyakit diare yang dapat bereproduksi dengan membentuk spora. Bakteri atau spora yang tertelan manusia akan bereproduksi dan menghasilkan toksin dalam usus, atau juga toksin yang telah menyebar pada makanan yang terkontaminasi masuk ke dalam tubuh akan menyebabkan diare dan emesis. Pada dinding sel *Bacillus* terdapat banyak lapisan peptidoglikan yang mengandung lipid pada dinding sel nya. Lipid tersebut adalah sumber pertahanan sel akan perlakuan fisik dan kimia. Kandungan lipid yang rendah diikat oleh senyawa antibakteri dari substrat yang ada sehingga sel akan kehilangan sistem pertahanannya yang menghasilkan kerusakan sel. Selain itu *Bacillus cereus*

hanya dapat tumbuh pada pH 4,5-9,5 sehingga pH substrat yang berada di bawah kisaran pH 4,1 merupakan kondisi yang tidak memungkinkan *Bacillus cereus* untuk tumbuh banyak.

Pada hasil penelitian, terlihat bahwa *Bacillus cereus* lebih resisten dibandingkan *Salmonella typhi*. *Bacillus cereus* adalah bakteri yang mewakili bakteri gram positif dan *Salmonella typhi* mewakili bakteri gram negatif. Menurut Fardiaz (1992), dinding sel bakteri gram positif dan negatif memiliki sensitifitas yang berbeda terhadap perlakuan enzim, fisik dan antibiotik. Dinding sel bakteri gram positif (*Bacillus cereus*) lebih tebal yang terdiri dari 60-100% peptidoglikan yang teratur, sedangkan bakteri gram negatif (*Salmonella typhi*) lebih tipis yaitu hanya 10-20% (Volk dan Wheeler, 1993; Amelia, 2010). Dinding sel yang lebih tipis tersebut memudahkan senyawa antimikroba untuk menembus dinding sel dan mengikat sel intraseluler bakteri. Hal tersebut yang membuat *Bacillus cereus* lebih resisten dibanding *Salmonella typhi* sehingga zona penghambatannya lebih kecil.

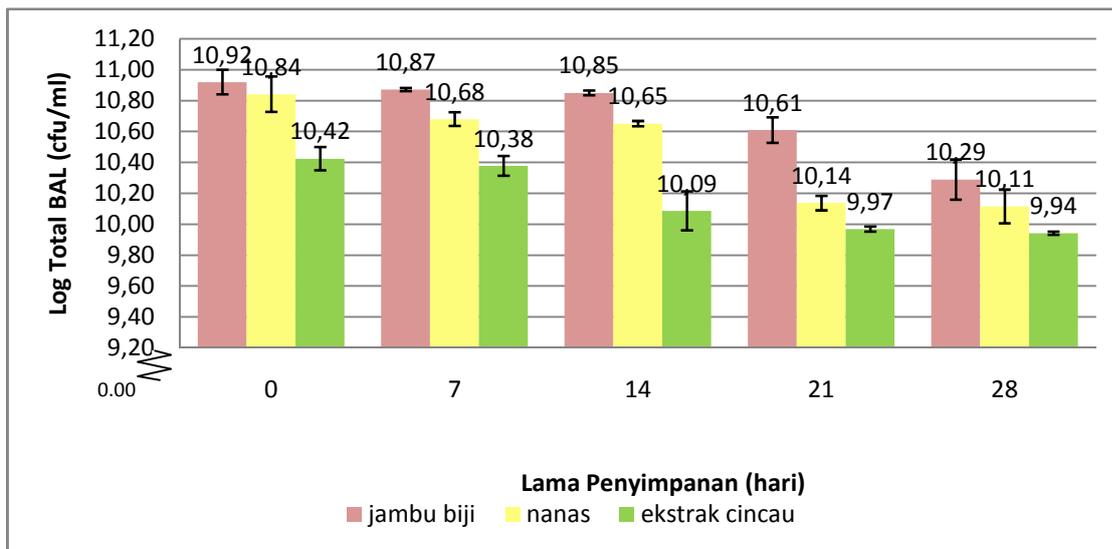
## **B. Total Bakteri Asam Laktat**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total bakteri asam laktat yang dihasilkan dari minuman simbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji pada penyimpanan 0, 7, 14, 21, dan 28 hari secara berturut-turut yaitu sebesar log 10,92; 10,87; 10,85; 10,61; dan 10,29 atau setara dengan  $8,3 \times 10^{10}$  cfu/ml;  $7,43 \times 10^{10}$  cfu/ml;  $7,13 \times 10^{10}$  cfu/ml;  $4,13 \times 10^{10}$  cfu/ml; dan  $1,93 \times 10^{10}$  cfu/ml.

Gambar 3 menunjukkan total bakteri asam laktat cenderung menurun seiring lama penyimpanan. Penyimpanan sampai hari ke-14 pada minuman simbiotik dengan penambahan jambu biji tidak menunjukkan penurunan BAL terlalu signifikan, namun setelah itu grafik menunjukkan penurunan yang signifikan. Penurunan bakteri asam laktat terjadi karena berkurangnya nutrisi yang tersedia pada media seiring penyimpanan. Nutrisi yang terus berkurang tersebut membuat bakteri asam laktat yang terus berkembangbiak menjadi tidak bisa bertahan hidup, sehingga sebagian akan melewati fase stationer dan semakin lama menuju fase kematian.

Hal yang sama terjadi pada total bakteri asam laktat dari minuman simbiotik cincau hijau yang diberi penambahan sari buah nanas. Selama penyimpanan 0, 7, 14, 21, dan 28 hari didapati bahwa log total bakteri asam laktat berturut-turut adalah 10,84; 10,68; 10,69; 10,14; dan 10,11 atau setara dengan  $6,9 \times 10^{10}$  cfu/ml;  $4,7 \times 10^{10}$  cfu/ml;  $4,9 \times 10^{10}$  cfu/ml;  $1,4 \times 10^{10}$  cfu/ml; dan  $1,3 \times 10^{10}$  cfu/ml. Gambar 4 juga menunjukkan bahwa selama penyimpanan 28 hari di suhu rendah terjadi penurunan populasi bakteri asam laktat yang selaras dengan

semakin lama penyimpanan. Demikian pula halnya dengan penyimpanan minuman sinbiotik cincau hijau. Pengujian yang sama telah dilakukan terhadap minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan tanpa penambahan sari buah selama 0, 7, 14, 21, dan 28 hari dengan jumlah log total BAL berturut-turut 10,42; 10,38; 10,09; 9,97; dan 9,94 atau setara dengan  $2,6 \times 10^{10}$  cfu/ml;  $2,4 \times 10^{10}$  cfu/ml;  $1,2 \times 10^{10}$  cfu/ml;  $9,3 \times 10^9$  cfu/ml; dan  $8,7 \times 10^9$  cfu/ml. Data menunjukkan total bakteri asam laktat pada minuman sinbiotik dengan penambahan sari buah jambu biji merah lebih tinggi dibandingkan penambahan sari buah nanas serta tanpa penambahan sari buah. .



Gambar 3. Histogram Perbandingan log total bakteri asam laktat minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji, nanas dan tanpa penambahan sari buah selama penyimpanan dingin.

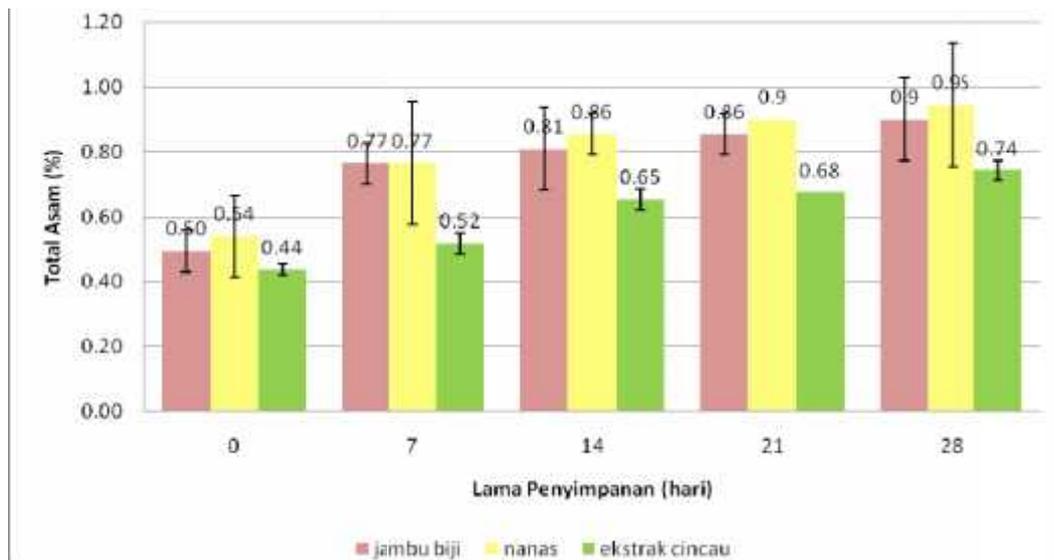
Perbedaan total BAL diduga karena kandungan nutrisi dan pH dalam media fermentasi pada masing-masing bahan baku berbeda, dan kemampuan *Lactobacillus casei* untuk tumbuh pada minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji dan sari buah nanas ataupun tanpa penambahan sari buah berbeda, sehingga produk yang dihasilkan setelah fermentasi terdapat perbedaan. Selama fermentasi mikroorganisme membutuhkan senyawa karbon untuk pertumbuhan penyusunan komponen sel dan pembentukan metabolit (Rahman, 1992). Pertumbuhan BAL diduga dipengaruhi komposisi kandungan gula pada sari buah yang berbeda. Sumber karbon dari buah jambu biji terdapat pada kandungan gula sebesar 3,71% (Winarti, 2010) dan buah nanas kandungan gula sebesar 2,70% (Asiedu, 2009). Perbedaan kandungan gula sari buah dan bertambah tingginya konsentrasi sari buah yang terkandung dalam minuman sinbiotik cincau hijau, menyebabkan jumlah populasi sel BAL lebih tinggi.

Selama fermentasi mikroorganismenya membutuhkan senyawa karbon untuk pertumbuhan dan penyusunan komponen sel dan pembentukan metabolit. Glukosa merupakan nutrisi penting bagi pertumbuhan bakteri asam laktat karena glukosa merupakan energi untuk merangsang pertumbuhan bakteri asam laktat. Oleh sebab itu dengan ketersediaan glukosa dalam jumlah yang cukup akan memicu pertumbuhan bakteri asam laktat (Rizal dkk., 2006). Selain itu BAL juga membutuhkan nitrogen untuk bermetabolisme. Kandungan nitrogen jambu biji yang lebih tinggi dibandingkan buah nanas membuat bakteri asam laktat mampu tumbuh lebih banyak dalam minuman sinbiotik yang diberi sari buah jambu biji.

### **C. Total Asam**

Total asam dari hasil penelitian menunjukkan bahwa total asam minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji pada konsentrasi 15% pada penyimpanan hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 adalah 0,5%; 0,77%; 0,81%; 0,86%; dan 0,9%. Gambar 4 menunjukkan adanya peningkatan total asam yang terkandung dalam minuman sinbiotik sari buah jambu biji selama penyimpanan dingin. Peningkatan terjadi karena aktivitas bakteri asam laktat selama fermentasi yang menghasilkan asam-asam organik seiring berjalannya waktu penyimpanan semakin berakumulasi, sehingga jumlah total asam minuman sinbiotik meningkat.

Peningkatan yang sama juga terjadi pada penambahan sari buah nanas. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa total asam minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas pada konsentrasi 15% pada penyimpanan hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 adalah 0,54%; 0,77%; 0,86%; 0,9%; dan 0,95%. Sedangkan total asam minuman sinbiotik cincau hijau dengan tanpa penambahan sari buah pada penyimpanan hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 secara berturut-turut adalah 0,44%; 0,52%; 0,65%; 0,68%; dan 0,74%. Dibandingkan dengan minuman sinbiotik tanpa penambahan sari buah, minuman sinbiotik dengan penambahan sari buah nanas dan jambu memiliki total asam yang lebih tinggi.



Gambar 4. Histogram perbandingan persentase total asam minuman sinbiotik cincau hijau dengan atau tanpa penambahan sari buah selama penyimpanan.

Histogram menunjukkan bahwa minuman sinbiotik dengan penambahan sari buah nanas memiliki total asam paling tinggi dibandingkan lainnya, namun tidak terlalu berbeda jauh dengan penambahan sari buah jambu biji. Seperti halnya penurunan pH, kandungan nutrisi yang berbeda menyebabkan adanya perbedaan jumlah asam yang terbentuk karena hasil fermentasi. Jumlah kandungan gula nanas lebih tinggi dibandingkan pada jambu biji, sehingga asam organik yang dihasilkan lebih tinggi. Total asam laktat semakin meningkat karena adanya penambahan susu skim, glukosa, penambahan sari buah jambu biji dan nanas. Semakin tinggi konsentrasi sari buah total asam laktat semakin tinggi, data ini didukung dengan data pH yang semakin rendah, serta nilai total BAL yang semakin meningkat.

Total asam yang dihitung dalam minuman sinbiotik ini sebagian besar merupakan asam laktat dan sebagian kecil merupakan asam-asam lemak rantai pendek seperti asam asetat, propionat, dan butirir. Akan tetapi, persentase asam propionat dan butirir lebih sedikit dibandingkan dengan asam asetat, karena asam propionat dan butirir akan terurai lebih lanjut menjadi asam asetat. Penambahan susu skim berfungsi sebagai sumber protein yang diperlukan oleh bakteri asam laktat sebagai sumber energi. Bakteri asam laktat akan memecah laktosa yang terdapat dalam susu skim dan penambahan sari buah dan glukosa berfungsi sebagai sumber karbon.

Bakteri asam laktat mempunyai peranan penting dalam proses fermentasi. Bakteri ini menghasilkan asam laktat dari metabolisme karbohidrat sebagai produk utamanya. Asam-asam yang dihasilkan membuat kondisi pH minuman sinbiotik semakin rendah dan menghambat berkembangnya bakteri yang hidup pada suasana netral maupun alkali. Bakteri

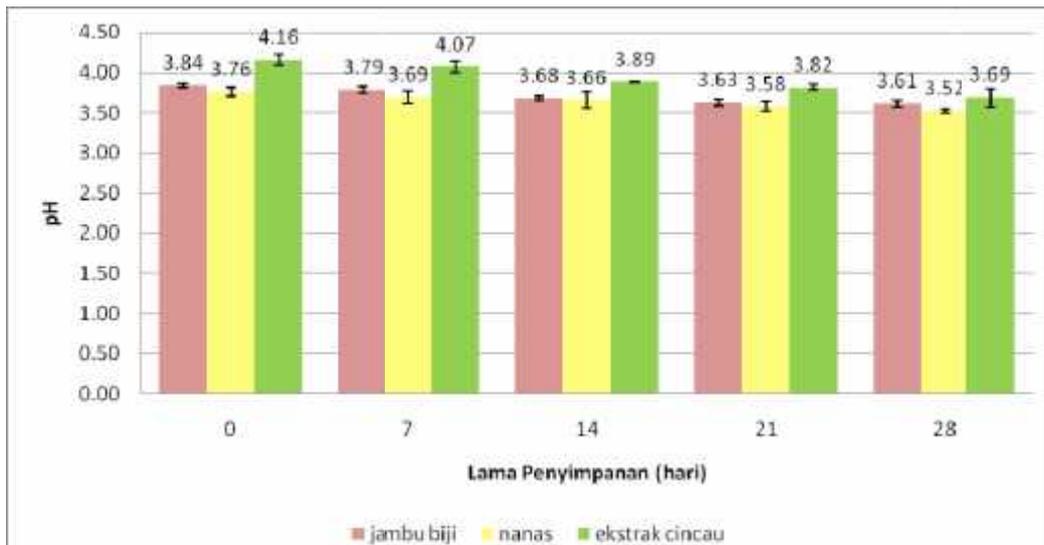
asam laktat juga mampu menghasilkan hydrogen peroksida, diasetil, dan senyawa lain yang tergolong anti mikroba yaitu bakteriosin, seperti nisin, pediosin AcH dan laktolin (Fitriani, 2013).

#### **D. Nilai Derajat Keasaman (pH)**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata pH dari minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji dengan konsentrasi 15% pada penyimpanan suhu rendah dari hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 secara berturut-turut adalah 3,84; 3,79; 3,68; 3,63; dan 3,61. Penurunan pH selama penyimpanan 28 hari ditunjukkan dengan tren grafik nilai pH yang menurun selama penyimpanan. Efektifitas senyawa antimikroba dipengaruhi oleh konsentrasi, jenis mikroba, pH, waktu, suhu, kadar air dan jumlah zat antimikroba (Apriyanto, 2002). Oleh karena itu, derajat keasaman atau pH merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri minuman sinbiotik yang dihasilkan.

Gambar 5 menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan, pH dari minuman sinbiotik cincau hijau mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena bakteri asam laktat terus menerus menghasilkan asam organik selama fermentasi, sehingga produk menjadi asam dan pH cenderung rendah. Pada penelitian minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas dengan konsentrasi 15% pada penyimpanan suhu rendah dari hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 secara berturut-turut adalah 3,76; 3,69; 3,66; 3,58; dan 3,52.

Grafik pada Gambar 5 menunjukkan bahwa pH minuman sinbiotik yang diberi penambahan sari buah nanas semakin menurun seiring lama penyimpanan. Hal ini disebabkan asam organik yang dihasilkan saat fermentasi semakin lama makin terakumulasi menjadi banyak meskipun bakteri asam laktat mulai berkurang. Sebagai pembanding juga diperoleh data pH rata-rata pada minuman sinbiotik cincau hijau dengan tanpa penambahan sari buah. Hal yang sama juga terjadi pada perlakuan penyimpanan dingin minuman sinbiotik cincau hijau hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 secara berturut-turut adalah 4,16; 4,07; 3,89; 3,82; dan 3,69. Semakin lama disimpan, produk akan semakin asam sehingga pH menunjukkan penurunan .



Gambar 5. Histogram perbandingan pH rata-rata minuman sinbiotik cincau hijau setiap perlakuan selama penyimpanan dingin

Gambar 5 menunjukkan bahwa pH minuman sinbiotik dengan penambahan dengan penambahan jambu biji lebih tinggi dibanding penambahan nanas. Dengan kata lain minuman sinbiotik cincau hijau dengan penambahan sari buah nanas menghasilkan produk yang lebih asam dibandingkan penambahan sari buah jambu biji. Namun tidak menunjukkan selisih yang begitu banyak. Perbedaan pH antara sari buah jambu biji dan sari buah nanas pada konsentrasi penambahan yang sama terjadi karena perbedaan kemampuan BAL dalam merombak sumber karbon dan nitrogen dan perbedaan kandungan gula jambu biji sebesar 3,71% (Winarti, 2010) dan kandungan gula buah nanas sebesar 2,70% (Asiedu, 2009).

*Lactobacillus casei* termasuk golongan fakultatif heterofermentative yaitu hampir semua glukosa dikonversi menjadi asam laktat melalui jalur Embden-Meyerhof dan pentosa digunakan untuk mempengaruhi phosphohoketolase untuk memproduksi asam laktat dan asam asetat (Richard and Robinson, 2000; Axelsson, 1993). Dalam pembuatan minuman sinbiotik cincau hijau ini, terjadi proses fermentasi yang akan menurunkan pH. Penurunan pH terjadi akibat pemecahan polimer pektin cincau, glukosa, dan laktosa menjadi monomer yang lebih sederhana dan memicu terbentuknya asam-asam organik oleh bakteri asam laktat. Penguraian senyawa-senyawa tersebut oleh bakteri asam laktat akan menghasilkan energi untuk bakteri asam laktat, serta menghasilkan senyawa-senyawa lain termasuk asam laktat.

## Kesimpulan

**Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :**

1. 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.
2. Minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan penambahan sari buah jambu biji merah dan nanas dengan konsentrasi 15% (v/v) menunjukkan peningkatan aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Bacillus cereus* dan *salmonella typhi* dengan efektifitas produk yang diberi penambahan sari buah jambu biji lebih tinggi dibandingkan sari buah nanas.
3. Daya hambat minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau baik tanpa ataupun dengan penambahan sari buah jambu biji dan nanas sebanyak 15% (v/v) terhadap *Salmonella typhi* lebih tinggi dibandingkan *Bacillus cereus*.

## Daftar Pustaka

- Anggraini, D. 2006. Pengaruh konsentrasi asam sitrat terhadap total pektin dan aktivitas antioksidan serat pangan dari cincau pohon (*Premna oblongifolia Merr*). (Skripsi). Universitas Lampung. 54 hlm.
- Apriyanto, D. 2002. Aktivitas Antibakteri Bubuk Lada (*Piper Nigrum L.*) terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Makanan dengan Metode sumur. Skripsi. Jurusan teknologi Hasil Pertanian. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 79 hlm.
- Asiedu, M.S, W. Wardy, F.K. Saalia, A.S. Budu and S.S Dedeh. 2009. A comparison of some physical, chemical and sensory attributes of three pineapple (*Ananas cosmosus*) varieties grown in Ghana. African Journal of Science 3(1) : 022-025.
- Axelsson, L.T. 1993. Lactic acid bacteria, classification and physiology. In Salminen, S and A.V. Wright (eds.). Lactic acid bacteria. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Collins, M.D. and G.R.Gibson.1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. Am. Journal Clin. Nutrition. 69(5):1052S-1057S.
- Daniswara, S. dan M. Soedibyo.1999. Awet muda dengan tumbuhan obat dan diet supleme. Trubus Agriwidya, Jakarta.

- Fardiaz, S. 1989. Penuntun praktikum mikrobiologi pangan. Fakultas teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Fitriani, D., E. Prangdimurti, M. Astawan, dan F.R. Zakaria. 2006. Aktivitas antioksidan ekstrak daun suji (*Pleomele angustifolia N.E. Brown*). Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Volume XVII No. 2 Tahun 2006. 9 halaman.
- Herliani, R. 2010. Produksi dan aktivitas antibakteri minuman sehat kaya vitamin b<sub>12</sub> hasil fermentasi laktat dari sari wortel. (Skripsi). Fateta. IPB. Bogor.
- Murhadi. 2002. Isolasi dan Karakteristik Komponen Antibakteri dari Biji Atung (*Parinarium glaberrimum Hassk*). Disertasi. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Murhadi. 2009.a. Ekstraksi, Fraksinasi dan Identifikasi Komponen Antibakteri Biji Atug (*Parinarium glaberrimum Hassk*). Buku Monograf (ISBN 978-979-8510-08-3, Tanggal 23 Desember 2009). Penerbit Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Richard, K., dan Robinson. 2000. Encyclopedia of food microbiology academic press. California. USA.
- Rizal, S., Marniza dan S.U.Nuridin. 2006. Optimasi proses pengolahan minuman probiotik dari kulit nenas dan pengaruhnya terhadap mikroflora usus besar tikus percobaan. Laporan Akhir Penelitian. TPSDP Unila. Bandar Lampung.
- Simanjuntak. 1993. Peningkatan kandungan vitamin B<sub>1</sub> dan B<sub>2</sub> serta aktivitas antitrombopik susu kacang tanah merah dan tolo fermentasi oleh *Lactobacillus casei* subsp. *Rhamnosus*. (Tesis). IPB. Bogor.
- Volk and Wheeler. 1993. Basic microbiology. Fifth Edition. Harper and Row Publisher Inc. New Jersey, Emeriyus. 396 pp.
- Winarti, S. 2010. Makanan fungsional. Graha Ilmu. Yogyakarta. 27 hlm.