

FERMENTABILITAS EKSTRAK CINCAU HIJAU (*Premna oblongifolia* Merr) OLEH TIGA JENIS BAKTERI ASAM LAKTAT

Fibra Nurainy¹, Samsu Udayana¹, Muhamad Kurniadi²

¹⁾ Dosen Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung,
Jl.Ir.Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145, Email: nurainy_thp@unila.ac.id

²⁾ Peneliti UPT.Balai Pengembangan Proses dan Teknologi LIPI, Gading, Playen Gunungkidul,
Yogyakarta, Tlp.0274392570, email: HM_KUR@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi ekstrak cincau yang tepat dan jenis bakteri asam laktat yang dapat tumbuh pada ekstrak cincau tersebut sehingga diperoleh minuman sinbiotik ekstrak cincau dengan karakteristik terbaik. Penelitian dilakukan terhadap 9 perlakuan yang berbeda dimana perlakuan disusun secara faktorial (3 x 3) dalam rancangan acak kelompok lengkap (RAKL) dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi ekstrak cincau hijau yang terdiri dari tiga taraf, yaitu 0%, 0,5%, dan 1%. Faktor kedua adalah jenis bakteri asam laktat, yaitu *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum*. Data dianalisis sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan dan dianalisis lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan minuman sinbiotik ekstrak cincau terbaik adalah minuman yang difermentasi oleh *Lactobacillus casei* pada konsentrasi ekstrak cincau 0,5% yang menghasilkan nilai log total BAL sebesar 9,07 atau setara $2,3 \times 10^9$ koloni/ml, nilai total asam sebesar 0,96% dan nilai pH sebesar 3,58. Namun demikian pada semua konsentrasi ekstrak cincau yang ditambahkan dan difermentasi oleh *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* maupun *Lactobacillus plantarum* tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* yang diuji dengan metode difusi agar.

Kata Kunci: Ekstrak cincau, bakteri asam laktat, minuman sinbiotik

ABSTRACT

The aim of this research is to determine the appropriate concentration of cincau extract and the type of lactic acid bacteria which able to grow in those extract to get cincau extract synbiotic beverage with the best characteristic. The research is done on different treatment, which treatment is arranged by factorial (3x3) in the complete group randomized design with 3 repetitions. The first factor is green cincau extract concentrations which consist of three levels that are 0%, 0.5% and 1%. The second factor is the type of lactic acid bacteria namely *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum*. The data is analyzed on its variety trace to identify whether there is different treatment among them or not. Eventually data is further analyzed with the less significant difference at 5% level. The result shows that the best cincau extract synbiotic beverage was obtained by *Lactobacillus casei* fermentation at the 0,5% of cincau extract concentration which yield total $2,3 \times 10^9$ colony/ml, acid total value 0,96% and pH value 3,58. However, at all cincau extract which added and fermented by *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* or *Lactobacillus plantarum*, showed no activity of anti bacteria against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* which tested by gel diffusion method.

Keyword: cincau extract, lactate acid bacteria, synbiotic beverage

PENDAHULUAN

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa mikroflora usus besar mempunyai andil yang sangat besar terhadap kesehatan manusia. Beberapa jenis bakteri yang terdapat dalam usus besar ternyata dapat menciptakan kondisi fisiologis dan menghasilkan metabolit yang dapat meningkatkan status kesehatan sang inang. Kondisi menguntungkan tersebut dapat dimodulasi dengan cara mengkonsumsi bakteri hidup yang memiliki efek menguntungkan (probiotik), mengkonsumsi komponen yang dapat menjadi substrat bakteri yang menguntungkan (prebiotik) atau mengkonsumsi keduanya (sinbiotik)^(6,21) Penelitian tentang cincau hijau sebagai sumber serat pangan menunjukkan bahwa cincau hijau yang diekstrak dengan larutan asam sitrat atau sodium heksametafosfat **memberikan** karakteristik fungsional yang menguntungkan, seperti viskositas dan daya serap air yang tinggi, serta memiliki aktivitas antioksidan⁽¹⁵⁾. Ekstrak tersebut juga mengandung pektin 40 %⁽¹⁵⁾. Pada cincau, komponen pembentuk gelnya adalah senyawa polisakarida jenis pektin yang bermetoksi rendah⁽⁵⁾. **Pektin** merupakan serat pangan larut air yang dapat difermentasi oleh mikroflora usus besar⁽¹¹⁾. Serat pangan dengan fermentabilitas yang tinggi dapat digolongkan sebagai prebiotik. Ekstrak cincau hijau diduga merupakan polisakarida yang dapat berfungsi sebagai sumber karbon dan energi pada pertumbuhan bakteri. Karena hubungan antara laju pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi substrat bersifat sigmoid, maka konsentrasi substrat yang menghasilkan laju pertumbuhan yang optimal perlu ditemukan.

Salah satu kriteria komponen yang dapat digunakan sebagai substrat prebiotik adalah komponen tersebut harus mampu menunjang pertumbuhan bakteri probiotik yang dipilih. Pengujian fermentabilitas komponen pembentuk gel cincau hijau⁽¹⁶⁾ atau pektin^(7,8) yang telah dilakukan masih menggunakan kultur campuran yang berasal dari digesta tikus atau feses manusia. Oleh karena itu pemilihan jenis bakteri yang bersifat probiotik yang dapat tumbuh pada substrat ekstrak cincau hijau perlu dilakukan. Sebagian besar produk probiotik komersial menggunakan bakteri asam laktat (BAL) golongan *Lactobacillus*, sehingga pada penelitian ini bakteri yang akan digunakan dipilih dari golongan *Lactobacillus*.

Bakteri asam laktat (BAL) banyak ditemukan dalam saluran pencernaan dan bersifat menguntungkan bagi usus manusia, seperti *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum*. Menurut Kobayashi *et al.*, 1974 dalam Rizal 1998⁽¹⁸⁾, bakteri yakult (*Lactobacillus casei*) dapat bertahan hidup ketika mencapai usus. Kehidupan *Lactobacillus casei* dalam saluran pencernaan dipengaruhi oleh keadaan flora dan jenis makanan dalam saluran pencernaan. Menurut Fardiaz, dkk⁽⁹⁾ *Lactobacillus casei* merupakan bakteri probiotik yang menghasilkan senyawa antimikroba seperti asam laktat, bakteriosin, dan hidrogen peroksida.

Hasil penelitian Rizal dkk..(2006)⁽¹⁹⁾ pada sari kulit nenas yang difermentasi *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan minuman fermentasi laktat dengan konsentrasi asam laktat 1,26%, pH 3.96, dan total BAL $2,9 \times 10^{10}$ koloni/ml. *Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu golongan BAL terbesar yang sangat fleksibel dan biasa ditemukan pada produk fermentasi kubis (“sauerkraut”), acar, keju, dan sosis fermentasi⁽²⁾. *Lactobacillus plantarum* juga memiliki kriteria sebagai kultur probiotik karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan menciptakan kondisi asam.

Pada dasarnya minuman fermentasi laktat dibuat dengan memfermentasi substrat yang mengandung karbohidrat menggunakan BAL. Proses fermentasi dapat berlangsung dengan baik dengan adanya inokulum sebagai starter dan media fermentasi yang akan menyediakan nutrient yang dibutuhkan oleh BAL untuk pertumbuhan, bahan pembentuk sel, dan biosintesis produk metabolisme. Dalam penelitian ini akan ditentukan konsentrasi substrat (ekstrak cincau hijau) yang tepat dan jenis BAL yang dapat tumbuh pada ekstrak tersebut sehingga menghasilkan minuman sinbiotik dengan karakteristik terbaik. Di samping itu juga akan dilakukan pengukuran aktivitas antibakteri dari BAL yang digunakan.

BAHAN DAN METODA

Bahan

Bahan utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun cincau dari tanaman cincau pohon (*Premna oblongifolia* Merr) yang dipetik mulai dari daun ke 5 ke arah pangkal. Inokulum *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* yang diperoleh dalam bentuk kultur murni dari Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan adalah asam sitrat, buffer fosfat, MRS Broth, MRS Agar, NaCl 0,85%, etanol, NaOH, aquades dan bahan analisis kimia lainnya.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan dua digit (EK-600G), blender (Philips), sendok, water bath, pisau, oven (Philips Harris Ltd), stirrer (VWR), autoklaf, shaker, kain saring “Hero”, vortex (Thermolyne), inkubator, ‘colony counter’ (Quebec), tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, gelas piala, loyang alumunium, plastik tahan panas, baskom, alumunium foil, ayakan dan alat-alat gelas lainnya.

Metoda Penelitian

Penelitian dilakukan terhadap 9 perlakuan yang berbeda, dimana perlakuan disusun secara faktorial (3 x 3) dalam rancangan acak kelompok lengkap (RAKL) dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi ekstrak cincau hijau (0%, 0.5%, dan 1%). Faktor kedua adalah jenis bakteri asam laktat (*Lactobacillus casei* (J1), *Lactobacillus acidophilus* (J2) dan *Lactobacillus plantarum* (J3)). Data yang diperoleh dianalisis sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan dan dianalisis lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 5%⁽²⁰⁾.

Ekstraksi daun cincau hijau

Pembuatan serbuk daun cincau

Pembuatan tepung daun cincau dilakukan dengan menggunakan metode Nurdin dkk⁽¹⁷⁾, yang dimodifikasi. Daun cincau yang diperoleh dibuang tangkainya dan dicuci dengan air bersih kemudian dipotong-potong hingga berukuran sekitar 3 cm x 1,5 cm dan. Daun yang telah diperkecil ukurannya tersebut lalu dioven pada suhu 50°C selama sekitar 20-24 jam, setelah kering dihancurkan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.

Proses ekstraksi serbuk cincau

Sebanyak 25 gram tepung daun cincau hijau dicampurkan dengan air panas (suhu \pm 100°C) sebanyak 500 ml. Air yang akan digunakan 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 hero sambil dilakukan peremasan hingga diperoleh cairan kental ekstrak daun cincau. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 48 jam.

Persiapan starter

Persiapan starter dilakukan dengan memodifikasi metode Rizal dkk.⁽¹⁹⁾, yaitu kultur bakteri yang akan digunakan (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum*) dalam bentuk kultur murni masing-masing dipindahkan ke tabung reaksi berisi media MRS Broth steril. Dari MRS Broth steril sebanyak 1 sampai 2 tetes ditumbuhkan ke dalam susu skim 5% (b/v), yang telah disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Kultur ini disebut kultur induk. Selanjutnya dari kultur induk diinokulasikan ke media yang sama yaitu sebanyak

4% (v/v) (0,4 ml kultur induk ditambahkan ke dalam 9,6 ml media susu skim) dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C sehingga dihasilkan kultur antara. Selanjutnya kultur antara diinokulasikan sebanyak 4% (v/v) ke dalam media yang sama dengan penambahan sukrosa 3% (b/v) untuk mendapatkan kultur kerja. Pada proses pembuatan minuman sinbiotik, kultur kerja sebanyak 4% (v/v) digunakan sebagai starter atau inokulum.

Pembuatan minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau

Proses pembuatan minuman sinbiotik dari ekstrak cincau hijau diterapkan dengan memodifikasi metode pembuatan minuman fermentasi laktat yang dilakukan oleh Rizal dkk⁽¹⁹⁾. Ke dalam susu skim dilakukan penambahan sukrosa 3%, kemudian dihomogenisasi, selanjutnya dilakukan penambahan ekstrak cincau hijau sebanyak 0%, 0,5% dan 1% sesuai perlakuan, campuran diaduk merata dan dipasteurisasi pada suhu 80°C sampai 85°C selama 15 menit, kemudian didinginkan hingga suhu 37°C. Selanjutnya diinokulasi dengan kultur kerja *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* atau *Lactobacillus plantarum* sesuai perlakuan sebanyak 4% (v/v) dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 96 jam.

Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi :

Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Sebanyak 1 ml sampel diencerkan dengan 9 ml larutan garam fisiologis steril. Dari campuran tersebut diperoleh pengenceran 10^{-1} . Campuran kemudian dihomogenkan dan diambil 1 ml larutan dari tabung pertama dan dimasukkan kedalam tabung reaksi kedua yang juga berisi 9 ml larutan garam fisiologis sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan seterusnya sampai diperoleh pengenceran yang diinginkan (10^{-7} , 10^{-8} dan 10^{-9}). Dari pengenceran yang dikehendaki diambil dengan pipet 1 ml contoh lalu dimasukkan ke dalam cawan petri steril, lalu ditambahkan kira-kira 10 - 15 ml media MRS agar steril dan biarkan sampai membeku, kemudian cawan diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam dan dihitung koloni yang tumbuh dengan menggunakan alat penghitung koloni (*colony counter*). Total koloni yang terhitung harus memenuhi standar “*International Commission Microbiology Food*” (ICMF) yaitu antara 30 sampai dengan 300 koloni per cawan petri⁽¹⁰⁾.

Derajat keasaman (pH) dan total asam tertitrasi

Derajat keasaman (pH) akan ditentukan dengan pH meter, sedangkan total asam tertitrasi akan ditentukan dengan metode AOAC⁽⁴⁾

Pengukuran aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri minuman sinbiotik ekstrak cincau dilakukan dengan memasukkan sampel ke dalam media Nutrien Agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji (*Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*). Kultur bakteri uji ditumbuhkan terlebih dahulu ke dalam media Nutrien Broth sebanyak satu ose dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Kultur uji yang telah dipersiapkan di atas diinokulasi sebanyak 0,2% (0,2 mL dalam media Nutrien Agar 100 mL). Selanjutnya media yang telah berisi kultur uji tersebut dituangkan ke dalam cawan petri steril dan ditunggu hingga membeku. Setelah itu dibuat 6 buah sumur pada agar cawan (masing-masing jenis BAL duplo) secara aseptis dengan diameter sekitar 7 mm, selanjutnya dimasukkan minuman sinbiotik sebanyak 60 µL dengan 3 macam konsentrasi yang berbeda dan diinkubasikan pada 37⁰C selama 2 hari.

Penghambatan mikroba uji oleh bakteri asam laktat dinyatakan dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumur. Zona penghambatan diukur berdasarkan diameter areal bening di sekitar sumur. Areal bening di sekitar sumur diukur dengan jangka sorong mulai dari tepi sumur. Selanjutnya untuk mendapatkan nilai diameter zona hambat hasil konversi dilakukan dengan konversi perhitungan menggunakan rumus berikut ⁽¹⁴⁾

$$r' = \sqrt{(r_p^2 + 2 \cdot r_p \cdot r_s) \times F_k + r_s^2} - r_s \qquad d' = 2 (r')$$

Keterangan :

r' = jari-jari (mm) zona hambat hasil konversi

r_p = jari-jari (mm) zona hambat hasil pengujian (pengukuran langsung)

r_s = jari-jari sumur uji ditambah r_p

F_k = adalah faktor koreksi pengenceran atau pemekatan

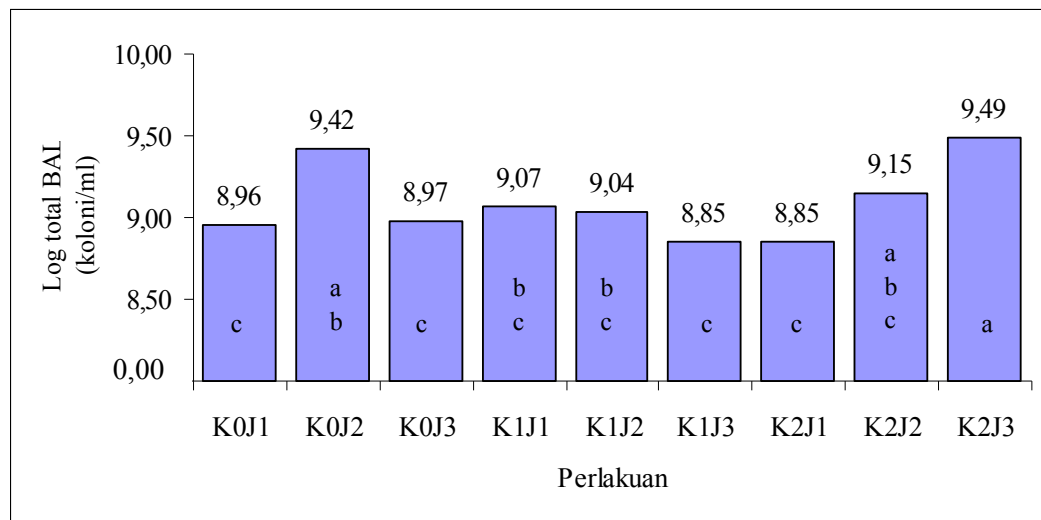
d' = Diameter (mm) zona hambat hasil konversi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Bakteri Asam Laktat

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak cincau dan jenis bakteri asam laktat (BAL) tidak berpengaruh nyata terhadap log total bakteri asam laktat minuman sinbiotik ekstrak cincau, namun interaksi antara kedua faktor utama tersebut berpengaruh nyata terhadap jumlah log

total bakteri asam laktat . Hasil uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) terhadap log total bakteri asam laktat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar1. Hubungan antara konsentrasi ekstrak cincau hijau dan jenis bakteri asam laktat terhadap total bakteri asam laktat

Keterangan :

***Huruf yang sama pada grafik menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada uji BNT 5%**

K0 : ekstrak cincau 0% J1 : *Lactobacillus casei*
 K1 : ekstrak cincau 0,5% J2 : *Lactobacillus acidophilus*
 K2 : ekstrak cincau 1% J3 : *Lactobacillus plantarum*

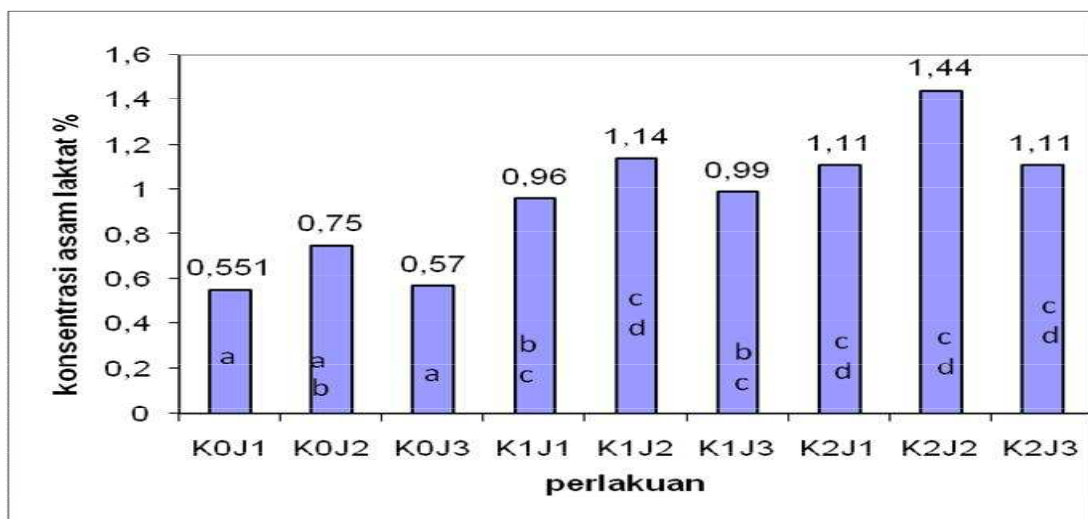
Gambar 1 menunjukkan terdapat perbedaan tanggapan antara *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* untuk setiap konsentrasi ekstrak cincau yang ditambahkan. Hal ini diduga disebabkan adanya perbedaan kemampuan ketiga jenis BAL dalam menggunakan substrat yang digunakan. Menurut Widowati⁽²²⁾, pemanfaatan substrat untuk pertumbuhan bakteri akan terlihat dengan meningkatnya jumlah sel bakteri dan senyawa lain yang terbentuk. Dari ketiga konsentrasi ekstrak cincau yang ditambahkan, dapat dilihat bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak cincau tidak selalu diikuti dengan peningkatan jumlah sel bakteri. Jenis bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* mengalami penurunan jumlah sel pada saat konsentrasi ekstrak cincau ditambahkan menjadi 0,5% dan 1% dibandingkan tanpa dilakukan penambahan ekstrak cincau (konsentrasi 0%). Hal ini dapat dikatakan bahwa substrat ekstrak cincau bukanlah substrat yang sesuai untuk kedua jenis bakteri ini, tetapi untuk jenis bakteri *Lactobacillus casei*, peningkatan konsentrasi ekstrak cincau hingga 0,5% mampu meningkatkan jumlahnya,

walaupun peningkatan konsentrasi ekstrak cincau hingga 1% menyebabkan penurunan jumlah sel yang tidak signifikan. Peningkatan jumlah sel tersebut menunjukkan bahwa ekstrak cincau 0,5% merupakan substrat yang sesuai untuk jenis bakteri ini. Interaksi yang baik antara bakteri asam laktat dengan substratnya, didukung oleh beberapa faktor antara lain kecocokan antara bakteri asam laktat dengan substratnya serta kemampuan bakteri asam laktat untuk dapat menggunakan substratnya secara optimal. Menurut Gibson⁽¹²⁾, setiap bahan tambahan yang masuk ke dalam usus dapat bertindak sebagai kandidat prebiotik, namun selektivitas dalam proses fermentasi sangat menentukan efektivitas bahan tersebut sebagai prebiotik.

Kesesuaian antara jenis bakteri asam laktat dan substrat yang digunakan akan berpengaruh terhadap karakteristik minuman sinbiotik yang dihasilkan. Menurut Angeles dan Marth (1971 dalam Adiyanti⁽¹⁾), tidak semua bakteri asam laktat dapat tumbuh dengan baik pada media yang digunakan, hal ini berhubungan dengan kemampuannya dalam menggunakan karbohidrat yang terdapat pada substrat tersebut. Pada fermentasi ekstrak beras dan kacang hijau menggunakan *Lactobacillus casei* mampu menghasilkan total BAL sebesar $1,98 \times 10^8$ koloni/ml, total asam 1,35% dan pH 3,85, sedangkan menggunakan *Lactobacillus acidophilus* hanya menghasilkan total BAL sebesar $1,67 \times 10^8$ koloni/ml, total asam laktat 1,09% dan pH 4,10⁽¹⁾

Total Asam Tertitrasi

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak cincau hijau dan jenis bakteri asam laktat (BAL) berpengaruh nyata terhadap total asam minuman sinbiotik ekstrak cincau, namun interaksi antara kedua faktor utama tidak berpengaruh nyata terhadap total asam yang dihasilkan Total asam minuman sinbiotik yang difermentasi dengan ketiga jenis asam laktat dan konsentrasi ekstrak cincau yang berbeda disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hubungan antara konsentrasi ekstrak cincau hijau dan jenis bakteri asam laktat terhadap total asam.

Keterangan :

*Huruf yang sama pada grafik menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada uji BNT 5%

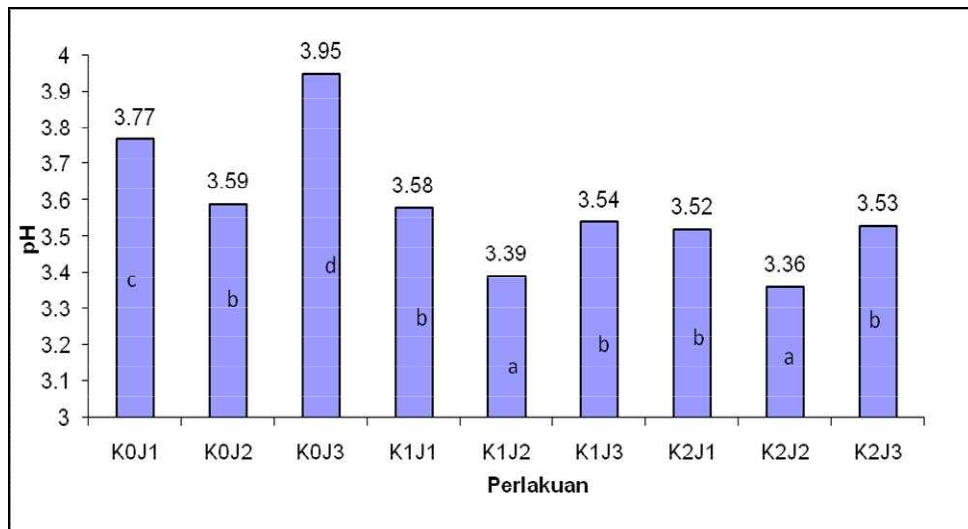
K0 : ekstrak cincau 0% J1 : *Lactobacillus casei*
K1 : ekstrak cincau 0,5% J2 : *Lactobacillus acidophilus*
K2 : ekstrak cincau 1% J3 : *Lactobacillus plantarum*

Gambar 2 menunjukkan bahwa total asam tertinggi dihasilkan pada minuman sinbiotik dengan penambahan konsentrasi ekstrak 1%. Peningkatan konsentrasi ekstrak cincau seiring dengan peningkatan total asam laktat yang dihasilkan, hal ini diduga semakin tinggi konsentrasi ekstrak cincau maka akan semakin banyak ketersediaan substrat yang akan dirombak oleh bakteri asam laktat sehingga akan berpengaruh terhadap total asam yang dihasilkan. Ekstrak cincau tersusun oleh pektin, klorofil, dan senyawa-senyawa antioksidan⁽⁵⁾. Pektin merupakan polimer yang harus diuraikan terlebih dahulu oleh bakteri sebelum digunakan sebagai substratnya. Degradasi pektin ini melalui beberapa tahapan, yaitu rantai panjang asam D-galakturonat pada pektin akan mengalami depolimerisasi menjadi asam galakturonat⁽⁸⁾. Asam monogalakturonat ini merupakan monomer-monomer yang telah memiliki bentuk sederhana, yang dapat dimanfaatkan oleh probiotik sebagai substrat untuk pembelahan sel dan menunjang pertumbuhannya.

Total asam yang dihasilkan untuk masing-masing jenis bakteri asam laktat (BAL) berbeda. Rata-rata total asam tertinggi dihasilkan pada minuman sinbiotik yang difermentasi oleh *Lactobacillus acidophilus*, yaitu sebesar 1,110% yang berbeda nyata dengan minuman sinbiotik yang difermentasi oleh *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* dengan total asam masing-masing sebesar 0,870% dan 0,890%. Perbedaan jumlah total asam yang dihasilkan diduga karena perbedaan kemampuan ketiga jenis BAL dalam menghasilkan asam. Peningkatan total asam pada penelitian ini tidak seiring dengan total BAL yang dihasilkan, hal ini diduga disebabkan karena asam yang terbentuk merupakan metabolit campuran.

Derajat Keasaman (pH)

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak cincau hijau dan jenis bakteri asam laktat (BAL) berpengaruh nyata terhadap pH minuman sinbiotik ekstrak cincau, namun interaksi antara kedua faktor utama tidak berpengaruh nyata terhadap pH minuman sinbiotik yang dihasilkan (Gambar 3).



Gambar 3. Grafik pengaruh konsentrasi ekstrak cincau dan Jenis bakteri asam laktat terhadap pH minuman sinbiotik ekstrak cincau.

Keterangan :

*Huruf yang sama pada grafik menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada uji BNT 5 %

K0 : ekstrak cincau 0% J1 : *Lactobacillus casei*
 K1 : ekstrak cincau 0,5% J2 : *Lactobacillus acidophilus*
 K2 : ekstrak cincau 1% J3 : *Lactobacillus plantarum*

Gambar 3 menunjukkan bahwa penurunan pH seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak cincau. Nilai pH terendah dihasilkan pada minuman dengan penambahan konsentrasi ekstrak cincau 1% yang berbeda dengan penambahan ekstrak cincau 0% (tanpa penambahan ekstrak), tetapi tidak berbeda dengan penambahan ekstrak cincau 0,5%. Hal ini diduga semakin tinggi konsentrasi ekstrak cincau maka akan semakin banyak ketersediaan substrat yang akan dirombak oleh bakteri asam laktat sehingga akan berpengaruh terhadap peningkatan total asam yang dihasilkan. Peningkatan total asam akan mempengaruhi nilai pH. Penguraian senyawa pektin pada ekstrak cincau oleh bakteri asam laktat akan menghasilkan energi untuk aktivitas bakteri asam laktat, serta menghasilkan senyawa-senyawa lain termasuk asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat tersebut akan tersekresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam cairan fermentasi. Dengan meningkatnya jumlah asam yang diekresikan oleh bakteri asam laktat akan terjadi akumulasi asam dalam minuman, sehingga meningkatkan keasaman minuman sinbiotik. Peningkatan akumulasi asam ini akan menyebabkan terjadinya penurunan pH⁽²²⁾. Gambar 3 menunjukkan bahwa pH minuman yang dihasilkan dari fermentasi ketiga jenis bakteri asam laktat berbeda. Nilai pH terendah diperoleh pada minuman sinbiotik yang difermentasi oleh *Lactobacillus acidophilus* yang berbeda dengan minuman yang difermentasi oleh *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. Hal ini diduga fermentasi minuman dengan bakteri *Lactobacillus*

acidophilus menghasilkan sebagian besar adalah asam laktat. *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri asam laktat kelompok homofermentatif, yaitu bakteri yang memecah glukosa menjadi sebagian besar asam laktat⁽¹³⁾. Asam laktat (pka = 3,85) bersifat sedikit lebih kuat dibandingkan dengan jenis asam organik lain, seperti asam asetat (pka = 4,76), propionat (pka = 4,82) dan butirat (pKa = 4,87), sehingga minuman yang difermentasi oleh *Lactobacillus acidophilus* memiliki nilai pH yang lebih rendah dibandingkan dengan *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*, meskipun dengan jumlah yang lebih sedikit, sedangkan pada minuman yang difermentasi oleh *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* diduga adalah asam-asam yang bersifat lebih lemah, seperti asam asetat, propionat dan butirat⁽³⁾.

Pengukuran Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar menunjukkan bahwa minuman sinbiotik ekstrak cincau tidak menunjukkan adanya penghambatan terhadap bakteri uji, yaitu *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*, karena tidak tampak adanya zona bening disekitar sumur uji. Hal ini berarti bahwa metabolit yang dihasilkan dari fermentasi ekstrak cincau oleh *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, atau *Lactobacillus plantarum* tidak bersifat sebagai antibakteri terhadap bakteri uji tersebut. Metabolit yang dihasilkan dari fermentasi bakteri asam laktat umumnya berupa asam laktat.

Hasil metabolisme utama BAL adalah asam laktat, sebagai metabolit primer dan beberapa senyawa metabolit sekunder, seperti bakteriosin, nisin dan lactisin yang dapat bersifat sebagai antibakteri. Asam laktat merupakan metabolit primer yang dihasilkan dari proses fermentasi bakteri asam laktat dan substratnya. Metabolit sekunder umumnya dapat bersifat sebagai antibakteri. Metabolit yang dihasilkan pada fermentasi minuman ekstrak cincau diduga tidak menghasilkan metabolit sekunder atau hanya dihasilkan dalam jumlah yang sangat kecil, sehingga tidak mampu menghambat aktivitas bakteri patogen yang diuji.

KESIMPULAN

Lactobacillus casei merupakan BAL yang mempunyai kemampuan untuk menggunakan ekstrak cincau sebagai substrat untuk menghasilkan minuman sinbiotik terbaik. *L casei* yang diinokulasikan pada ekstrak cincau dengan konsentrasi 0,5% menghasilkan minuman sinbiotik dengan total BAL sebesar $2,3 \times 10^9$ koloni/ml, total asam sebesar 0,96% dan nilai pH sebesar 3,58. Namun demikian pada semua konsentrasi ekstrak cincau yang ditambahkan dan difermentasi oleh *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* maupun *Lactobacillus plantarum* tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* yang diuji dengan metode difusi agar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adiyanti, H.. Fermentasi Asam Laktat pada Ekstrak Beras dan Kacang Hijau oleh *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei*. Skripsi Fateta. IPB.Bogor. 1997
2. Anonim. 2003. *Lactobacillus plantarum*. www.wikipedia.com. Diakses tanggal 28 Februari 2007.
3. Anonim. 2007. Keasaman dari Asam Organik. <http://www.chemistry.org>. Diakses 12 September 2007.
4. AOAC. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemist. Washington. 2000.
5. Artha, N. Isolasi dan Karakterisasi Sifat Fungsional Komponen Pembentuk Gel Daun Cincau (*Cyclea barbata L. Miers*). Disertasi: IPB. Bogor. 2001.
6. Collins, M.D. and G.R. Gibson. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* 69:5. (1999.)
7. Dongowski, G., Lorenz, A., Anger, H. Degradation of Pectin with Defferent Degrees of Esterification by *Bacteriodes thtaiotaomicron* Isolated from Human Gut Flora. *J. American Society for Microbiology.* 66(4):1321-1327.(2000)
8. Dongowski, G., Lorenz, A., Proll,. The Degree of Methylation Influence the Degredation of Pectin in the Intestinal Tract of Rats and In-vitro. *J. Nutr.* 132:1935-1944 (2002)
9. Fardiaz, S., Eka D.N., dan Kusumaningrum, H.D. Produksi dan aktivitas Antibakteri Minuman Sehat Kaya Vitamin B12 Hasil Fermentasi laktat dari Sari Wortel. *Jurnal Ilmu dan teknologi Pangan.* 1 (2):hal 25-30.(1996)
10. Fardiaz, S.. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. IPB. Bogor. 1987
11. Gallaher, D. Dietary Fiber and Its Physiological Effect In Essential Of Functional Food. An Aspen Publisher. Maryland. 2000.
12. Gibson, G.R. and Robertfroid, M.B.. Dietary Modulation of Human Colonic Microbiase Introducing The Concept of Prebiotic. *J. Nutr.*125:1401-1412.(1995)
13. Jay, J.M.. Modern Food Microbiology.Aspen Publisher. 2000
14. Murhadi. 2002. Isolasi dan Karakteristik Komponen Antibakteri dari Biji Atung (*Parinarium giberrium* Hassk). Disertasi Program Pascasarjana IPB. Bogor.
15. Nurdin,S.U. Green Cincau Leaves (*Premna oblongifolia* Merr) as Potensial Source of Pectin – Rich Plant Extract. *Artocarpus*..5(1) : 24-27(2005)
16. Nurdin, SU., Rizal, S. dan Suharyono. Potensi Komponen Pembentuk Gel Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr) Sebagai Serat Pangan dibandingkan dengan Inulin dan Selulosa.. Prosiding Seminar Nasional PATPI. Yogyakarta. 2006

17. Nurdin, SU. Zuidar, AS., dan Krisnawati, R. . Pengaruh Konsentrasi Asam Sitrat terhadap Rendemen dan Sifat Serat Pangan dari Daun Cincau Pohon (*Premna oblongifolia* Merr.) **Prosiding Seminar Nasional dan Konggres PATPI**. Jakarta, 17-18 Desember 2004.
18. Rizal, S. Pengawetan makanan dengan BAL. Paper. Jurusan Ilmu Pangan. Fakultas Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 1998
19. Rizal, S., Marniza, dan Nurdin, SU. Optimasi Proses Pengolahan Minuman Probiotik dari Kulit Nenas dan Pengaruhnya Terhadap Mikroflora Usus Besar Tikus Percobaan. Laporan Akhir Penelitian. TPSDP UNILA. Bandar Lampung. . 2006
20. Steel, G.D., dan J.H.Torrie.. Rancangan Percobaan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 1991
21. Suskovic, J., B. Kos, J. Goreta, and S. Matosic. Role of lactic acid Bacteria and *Bifidobacteria* in synbiotic effect. **J. Food Technol. Biotechnol.** 39(3):227-235.(2001)
22. Widowati, S dan Misgiyarta. Efektivitas Bakteri Asam Laktat Dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein atau Susu Nabati. Prosiding Seminar Hasil Pertanian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. Hal 360-372. 2003.