

**UJI KEBERADAAN DAN VIABILITAS SEL *Lactobacillus bulgaricus*
PADA PEMBUATAN VCO FERMENTASI YANG BERFUNGSI PROBIOTIK**

S a r k o n o dan Nur Indah Julisaniah

Program Studi Biologi Fakultas MIPA, Universitas Mataram
Jl. Majapahit 62 Telp. (0370) 641724 Fax. (0370) 636041 Mataram- NTB
E-mail: sarkonobiologi@gmail.com

Abstrak : Salah satu upaya pengembangan produk kelapa adalah pembuatan minyak kelapa murni atau biasa disebut *Virgin coconut oil* (VCO). Selain dengan proses sentrifugasi, VCO juga dapat dibuat dengan bantuan mikrobial khususnya bakteri. Dalam penelitian ini dilakukan pembuatan VCO dengan metode fermentasi menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri *L. bulgaricus* dapat digunakan sebagai salah satu alternatif dalam pembuatan VCO dengan cara fermentasi. Setelah proses fermentasi, sel bakteri *L. bulgaricus* lebih banyak berada pada lapisan blondo, diikuti lapisan air dan lapisan minyak. Sedangkan berdasarkan uji viabilitas selama penyimpanan, jumlah sel *L. bulgaricus* terus mengalami penurunan jumlah sel hidup selama penyimpanan. Waktu penyimpanan maksimal dimana masih terdapat sel *L. bulgaricus* pada VCO adalah 24 hari.

Kata kunci : VCO, *Lactobacillus bulgaricus*, Viabilitas.

**EXISTENCE AND VIABILITY TEST OF *Lactobacillus bulgaricus* CELLS ON PRODUCING VCO
PROBIOTIC FERMENTATION**

Abstract : An effort of coconut product development is making the pure coconut oil or so-called Virgin Coconut Oil (VCO). Besides of centrifugation process, VCO can be also made by biological process, especially using bacteria. Bacterial fermentation method with *Lactobacillus bulgaricus* was performed to produce VCO. The results showed that the bacterium *L. bulgaricus* can be used as an alternative in producing VCO by way of fermentation. After the fermentation process, bacterial cells *L. bulgaricus* mostly present at blondo layer, followed by a layer of water and oil layers. Meanwhile, based on testing the viability during storage, the number of cell *L. Bulgaricus* been steadily declining number of living cells during storage. The maximum storage time for *L. bulgaricus* on the VCO is 24 days.

Keywords : VCO, *Lactobacillus bulgaricus*, Viability.

I. PENDAHULUAN

Peran komoditas kelapa di Nusa Tenggara Barat khususnya dan Indonesia umumnya hingga saat ini masih terbatas sebagai penyedia bahan baku primer bagi industri hilir yang berkembang di negara lain terutama sebagai minyak goreng/ minyak sayur dan belum dimanfaatkan secara optimal bagi pengembangan industri hilir berbasis kelapa di Indonesia, sehingga margin keuntungan yang diperoleh pihak petani kelapa kita masih sangat kecil. Menurut catatan BPS, harga produsen kelapa tua belum dikupas di Propinsi NTB rata-rata sebesar Rp. 52.927,23 per 100 butir (tahun 1999) dan meningkat menjadi Rp. 113.645,83 per 100 butir (tahun 2004). Harga yang rendah di tingkat produsen ini berdampak pada rendahnya tingkat kesejahteraan petani kelapa.

Diversifikasi produk merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk meningkatkan nilai ekonomi suatu produk mentah. Untuk komoditi kelapa, produksi VCO (*Virgin Coconut Oli*) merupakan salah satu alternatif usaha yang sangat potensial dikembangkan. Melalui penggunaan teknologi yang tepat dan penerapan prinsip-prinsip dasar optimasi proses, pengolahan kelapa yang selama ini secara konvensional dapat diperbaiki sehingga kualitas produk yang dihasilkan dapat ditingkatkan, yang pada akhirnya akan berdampak pada peningkatan nilai ekonomi.

Dewasa ini pembuatan VCO telah mengalami perkembangan yang pesat. Menurut Rahadi [1], VCO dapat dibuat melalui 2 cara yaitu proses panas dan dingin. Proses panas merupakan proses yang telah dikembangkan masyarakat tradisional yaitu dengan memanaskan santan

pada suhu terbatas yaitu 60⁰ – 80⁰C, sehingga diperoleh minyak jernih yang dapat dikategorikan sebagai minyak kelapa murni. Tetapi, proses pemanasan justru dapat menyebabkan asam lemak pada VCO menjadi rusak/ terurai sehingga sifat farmakologisnya menjadi hilang [2]. Sedangkan proses dingin yaitu proses pembuatan minyak secara enzimatis. VCO dapat diperoleh melalui fermentasi starter bakteri tertentu seperti bakteri yang tergolong bakteri asam laktat (BAL) atau menggunakan enzim poligalakturonase, alfa amylase, protease, atau pektinase. Enzim-enzim ini dapat diperoleh dari mikrobial, tumbuhan maupun hewan.

Pembuatan VCO dengan fermentasi bakteri diyakini dapat menghasilkan rendemen minyak yang tinggi serta dapat mengurangi kemungkinan rusaknya beberapa senyawa yang penting bagi kesehatan [3]. Selain diharapkan akan menghasilkan VCO yang berkualitas, penggunaan bakteri asam laktat juga diharapkan memberikan efek cita rasa dan keawetan produk. Peranan bakteri asam laktat dalam memperbaiki cita rasa serta efek pengawetan pada produk fermentasinya disebabkan bakteri asam laktat dapat memproduksi dan melakukan sekresi senyawa penghambat seperti asam laktat, hidrogen peroksida, bakteriosin dan reuterin yang sudah dikenal kemampuannya sebagai senyawa penghambat. Disamping itu kandungan asam laurat yang terdapat pada VCO fermentasi (LABCO) tetap tinggi karena proses pembuatannya tidak menggunakan pemanasan yang dapat menguapkan asam laurat [4].

Lebih dari itu, penggunaan starter bakteri asam laktat dalam pembuatan VCO diharapkan dapat

menghasilkan produk VCO yang sekaligus berfungsi sebagai makanan fungsional (probiotik). Oleh karena itu syarat yang penting untuk dipenuhi adalah bahwa sel bakteri probiotik harus dapat teradaptasi dalam produk VCO sampai dikonsumsi oleh konsumen. Hasil penelitian Sarkono dan Ulfa [5], membuktikan bahwa VCO yang dibuat dengan fermentasi *L. bulgaricus* tidak bersifat antibakteri. Selain disebabkan VCO yang tidak dapat berdifusi pada media biakan karena menggunakan pelarut air, diduga juga disebabkan metabolit sekunder yang dihasilkan *L. bulgaricus* selama fermentasi tidak larut dalam VCO tetapi justru larut pada lapisan air. Maka agar penggunaan bakteri pada VCO lebih bermanfaat adalah dengan mempertahankan keberadaan sel bakteri dalam produk VCO sehingga dapat berfungsi sebagai VCO probiotik. Oleh karenanya penting untuk dipelajari keberadaan sel bakteri *L. bulgaricus* setelah proses fermentasi pada tiga lapisan yang terbentuk yaitu lapisan air, minyak dan blondo, juga sampai berapa lama sel bakteri *L. bulgaricus* masih dapat bertahan hidup (viable) dalam produk VCO selama penyimpanan pada suhu ruang. Dari penelitian ini diharapkan dapat dipahami keberadaan dan viabilitas sel *L. bulgaricus* pada produk VCO yang diharapkan dapat sekaligus berfungsi sebagai probiotik.

II. DESAIN DAN METODE PENELITIAN

2.1. Desain/ Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan metode experimental dengan memberikan perlakuan bakteri *L. bulgaricus* pada pembuatan VCO fermentasi untuk kemudian dipelajari keberadaan sel bakteri tersebut setelah fermentasi berlangsung, kemudian dipelajari viabilitasnya selama penyimpanan VCO pada suhu ruang.

2.2. Parameter Penelitian

Parameter yang akan diukur dalam penelitian ini adalah jumlah total sel *Lactobacillus bulgaricus* per ml sampel dan ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* pada sampel VCO pada masing-masing waktu penyimpanan.

2.3. Sumber bahan baku kelapa dan kultur starter

Buah kelapa yang digunakan adalah jenis kelapa yang sudah tua, ditandai dengan perubahan warna kulit luar buah kelapa dari warna hijau atau coklat kemerahan menjadi coklat tua. Sumber kelapa diperoleh dari Perkebunan Kelapa Rakyat di daerah Kecamatan Labuapi, Lombok Barat. Sedangkan starter bakteri *L. bulgaricus* diperoleh dari *Food and Nutrition Culture Collection (FNCC)* Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta.

2.4. Pembuatan santan

Buah kelapa diparut, kemudian parutan kelapa yang diperoleh ditambah air dengan perbandingan 1:1 (1 Kg kelapa parut : 1 liter air). Diremas-remas kemudian disaring dengan saringan kelapa. Pemerasan dilakukan dua kali. Pada pemerasan kedua ditambah air dengan perbandingan 1: 0,5. Kedua santan dicampur dan diaduk kemudian dididihkan selama 30 menit, sehingga terjadi pemisahan. Setelah terbentuk lapisan (skim pada bagian bawah dan krim pada bagian atas), maka skim dan krim

Uji Keberadaan Viabilitas Sel (Sarkono, Nur Indah)

dipisahkan. Skim santan digunakan sebagai media untuk pembuatan larutan starter, sedangkan krim santan disentrifugasi menggunakan *mixer* dan sebagai substrat untuk pembuatan minyak kelapa.

2.5. Persiapan Kultur Starter

Persiapan kultur starter dilakukan dengan cara mengambil 1 ose kultur bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, kemudian diinokulasikan ke dalam medium starter berupa campuran 9 mL skim santan dan 1 mL air kelapa. Setelah itu diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 37°C.

2.6. Pembuatan VCO dengan starter *L. bulgaricus*

Sebanyak 2,5% starter *Lactobacillus bulgaricus*, dituangkan ke dalam 6 buah fermentor/erlenmeyer/botol yang telah berisi 250 mL krim santan sambil diaduk secara merata. Kemudian seluruh fermentor diinkubasi pada 37°C selama jam 24 jam. Estela inkubasi selanjutnya diamati lapisan yang terbentuk, kemudian dibedakan dengan teliti batas antara lapisan blondo, lapisan VCO dan lapisan air pada bagian paling bawah.

2.7. Uji Keberadaan Sel *L. bulgaricus* dalam tiga lapisan fermentasi

Masing-masing lapisan (blondo, minyak dan air) diambil sampelnya sebanyak 1 ml, selanjutnya dilakukan pengenceran berseri dari 10¹ sampai 10⁶. Selanjutnya dari pengenceran 10¹ 3 sampai 10¹ 6 dilakukan plating secara duplo pada media MRS agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing cawan petri dengan menggunakan colony counter, untuk selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah total koloni per ml bahan.

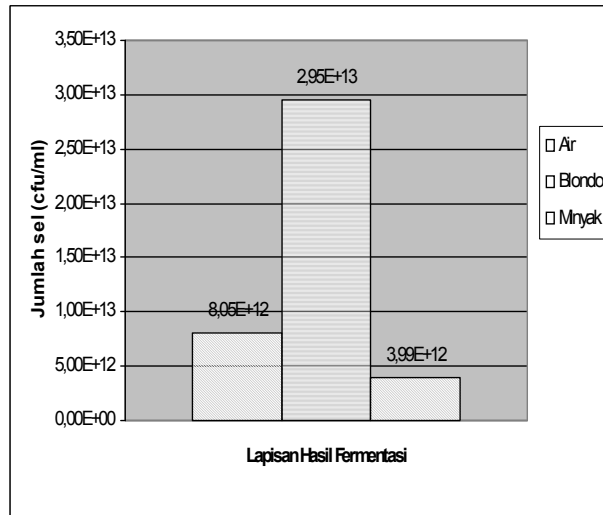
2.8. Uji Viabilitas Sel *L. Bulgaricus* dalam VCO

VCO hasil fermentasi selanjutnya digunakan dalam uji viabilitas sel *L. Bulgaricus* selama waktu penyimpanan. VCO sebanyak 5 ml dimasukkan ke masing-masing tabung reaksi dengan tiga (3) kali ulangan, kemudian diinkubasi pada suhu ruang dengan waktu inkubasi berbeda yaitu 0 hari, 6 hari, 12 hari dan 24 hari. Pada setiap waktu pengamatan diuji viabilitas sel *L. Bulgaricus* dengan cara menumbuhkannya pada media MRS Agar. Adanya pertumbuhan koloni pada media agar setelah waktu inkubasi mengindikasikan bahwa sel *L. Bulgaricus* masih viabel (mampu bertahan hidup) dalam VCO selama waktu penyimpanan tertentu.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri asam laktat dalam hal ini *Lactobacillus bulgaricus* dapat digunakan sebagai salah satu alternatif dalam pembuatan VCO dengan cara fermentasi. Hal ini membuktikan bahwa bakteri tersebut mampu beradaptasi dan menggunakan krim santan sebagai habitat hidupnya. Pada dasarnya bakteri ini menggunakan zat nutrisi yang terdapat didalam krim santan kelapa untuk keperluan hidupnya, terutama karbohidrat dan protein. Degradasi karbohidrat dan protein menyebabkan molekul minyak yang dikelilingi molekul karbohidrat dan protein dalam

krim santan menjadi bebas dan terbentuklah minyak VCO. Menurut Wibowo [6], karbohidrat merupakan sumber karbon dan energi utama pada bakteri asam laktat. Lebih lanjut dinyatakan bahwa bakteri asam laktat juga membutuhkan beberapa asam amino untuk pertumbuhannya. Umumnya bakteri ini membutuhkan asam glutamat dan valin, sedangkan kebutuhan asam amino lainnya bervariasi tergantung spesiesnya. Bakteri asam laktat bersifat proteolitik lemah dan dapat memperoleh kebutuhan asam aminonya dari degradasi protein di sekitarnya. Mekanisme lain yang diduga berperan pada pelepasan molekul minyak dari emulsi santan adalah karena pengaruh asam yang dihasilkan bakteri asam laktat sebagai hasil metabolisme karbohidrat. Asam laktat dalam medium fermentasi akan menurunkan pH krim santan menjadi sekitar 4.5. Pada pH ini protein mencapai titik iso elektrik dan menyebabkan lapisan protein yang melingkupi minyak terputus sehingga minyak keluar dan naik ke permukaan. Krim santan akan terpisah menjadi minyak, blonde dan air. Menurut Suhadijono dan Syamsiah [7], molekul minyak terdispersi dalam molekul air dengan kelilingi oleh lapisan protein. Untuk dapat mengeluarkan minyak dari lapisan proteinnya maka lapisan protein ini harus dapat diputus atau dibuka. Cara-cara yang dapat dilakukan untuk memecah emulsi adalah dengan melalui pemanasan, penggunaan asam atau dengan memanfaatkan enzim proteolitik dari bakteri seperti *L. bulgaricus*. Data jumlah total sel bakteri *L. bulgaricus* dalam minyak, blonde dan air disajikan pada grafik dibawah.

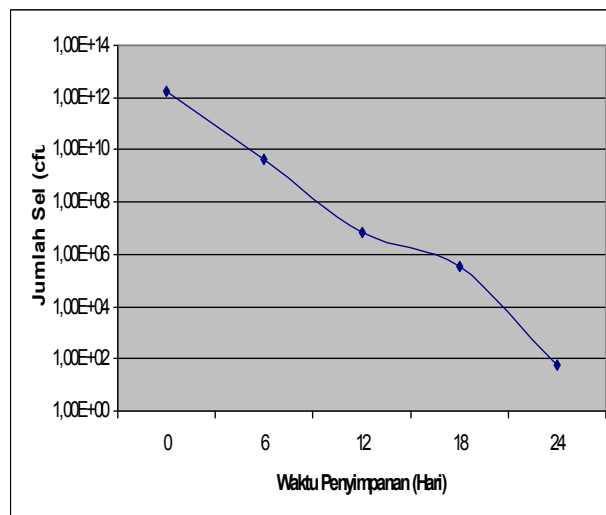


Gambar 1. Grafik jumlah total sel *Lactobacillus bulgaricus* dalam lapisan minyak, air dan blonde hasil fermentasi santan kelapa

Berdasarkan data pada gambar 1 diatas dapat dijelaskan bahwa setelah proses fermentasi berlangsung maka sel *L. bulgaricus* akan terdispersi kedalam tiga lapisan hasil fermentasi dengan jumlah yang bervariasi. Jumlah sel tertinggi adalah pada lapisan blonde yaitu sebesar $2,95 \times 10^{13}$ sel/ ml, diikuti lapisan air sebesar $8,05 \times 10^{12}$ sel/ ml dan paling rendah pada lapisan minyak sebesar $3,99 \times 10^{12}$ sel/ ml. Hal ini dapat dipahami karena lapisan blonde mengandung banyak protein yang berasal dari emulsi santan, sehingga dalam lapisan ini terkandung

banyak nutrient terutama protein, selain itu juga mengandung karbohidrat. Sedangkan lapisan air juga merupakan tempat melarutnya bahan nutrisi yang larut air, sehingga mendukung pertumbuhan sel bakteri. Sementara itu dalam lapisan minyak kandungan nutrisinya tidak sebanyak lapisan blonde dan air, karena bahan nutrisi yang larut minyak jumlahnya lebih sedikit. Namun demikian, keberadaan sel bakteri *L. bulgaricus* setelah proses fermentasi selesai membuktikan bahwa dalam lapisan minyak juga terdapat nutrisi yang berarti sampai batas tertentu juga mendukung kehidupan sel bakteri *L. bulgaricus*. Fenomena ini sangat penting artinya untuk tujuan pembuatan VCO yang berpotensi sebagai probiotik, karena secara alamiah sel *L. bulgaricus* dapat beradaptasi pada minyak VCO dengan kepadatan yang cukup besar mencapai $3,99 \times 10^{12}$ sel/ ml. Sehingga dapat diharapkan sel bakteri ini akan tetap bertahan hidup (viable) sampai masa penyimpanan tertentu selama distribusi sebelum VCO sampai ke konsumen.

Setelah diketahui keberadaannya dalam setiap lapisan hasil fermentasi, maka selanjutnya diuji sampai berapa lama sel *L. bulgaricus* dapat bertahan hidup selama penyimpanan pada suhu kamar. Hasil uji viabilitas selengkapnya disajikan pada gambar 2 di bawah.



Gambar 2. Grafik hasil uji viabilitas sel *L. bulgaricus* selama masa penyimpanan ada suhu ruang

Grafik di atas menunjukkan bahwa selama penyimpanan, jumlah sel bakteri *L. bulgaricus* terus mengalami penurunan. Pada penyimpanan 0 hari jumlah sel bakteri mencapai $1,65 \times 10^{12}$, pada hari ke 6 jumlahnya menurun menjadi $4,38 \times 10^9$, pada hari ke 12 menurun lagi menjadi $6,97 \times 10^6$, pada penyimpanan hari ke 18 menjadi $3,47 \times 10^5$ dan pada penyimpanan hari ke 24 jumlah sel tinggal $5,33 \times 10^1$. Penurunan jumlah sel selama penyimpanan dapat dipahami karena selama penyimpanan terus terjadi kematian sel. Selama penyimpanan tidak terjadi penambahan jumlah sel karena pada hakekatnya dalam minyak VCO bukan merupakan sumber nutrisi bagi bakteri *L. bulgaricus*. Walaupun ada nutrisi terlarut dalam minyak VCO, jumlahnya sangat terbatas sehingga tidak cukup untuk melakukan pertumbuhan. Di sisi lain data viabilitas menunjukkan bahwa sel *L. bulgaricus* mempunyai daya viabilitas yang cukup baik dalam media

minyak VCO, terbukti sampai hari terakhir penyimpanan (24 hari) masih ada sebagian sel bakteri yang bertahan hidup. Hal ini memberikan harapan yang cukup baik untuk dapat diproduksinya VCO yang sekaligus berfungsi sebagai probiotik, setidaknya dalam rentang waktu 24 hari setelah diproduksi.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa setelah proses fermentasi selesai sel *L. bulgaricus* terdispersi ke dalam tiga lapisan hasil fermentasi yaitu blondo, minyak dan air. Lapisan blondo mempunyai jumlah sel tertinggi yaitu $2,95 \times 10^{13}$ sel/ml, diikuti lapisan air sebesar $8,05 \times 10^{12}$ sel/ml dan paling rendah pada lapisan minyak sebesar $3,99 \times 10^{12}$. Selama penyimpanan sampai hari ke 24 sel bakteri *L. bulgaricus* masih viabel walaupun jumlahnya terus mengalami penurunan. Jumlah sel tertinggi dicapai pada penyimpanan hari ke 0 yaitu sebesar $1,65 \times 10^{12}$, pada hari ke 6 jumlahnya menurun menjadi $4,38 \times 10^9$, pada hari ke 12 menurun lagi menjadi $6,97 \times 10^6$, pada hari penyimpanan ke 18 menjadi $3,47 \times 10^5$ dan pada hari penyimpanan ke 24 jumlah sel tinggal $5,33 \times 10^1$.

4.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai viabilitas sel *L. bulgaricus* selama penyimpanan dengan suhu penyimpanan berbeda, sehingga dapat diketahui suhu penyimpanan yang memungkinkan sel *L. bulgaricus* mempunyai viabilitas terbaik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Ketua Lembaga Penelitian Universitas Mataram yang telah mendanai penelitian ini melalui dana SPP/DPP tahun 2008

DAFTAR PUSTAKA

- 1] Rahadi, F. 2005. *Cara Gampang Mengolah VCO*. (www.kimia-lipi.net) diakses 12 Juli 2006 pukul 16.20 wita.
- [2] Anonim. 2005. *Proses Pembuatan VCO*. (www.domarivco.com) diakses 31 Juli 2006 pukul 12.00 wita.
- [3] Ali. A dan Dwyana., Z., 2005. Bakteri Asam Laktat Potensi dan Peranan Dalam Produk Pangan dan Kesehatan, Universitas Hasanuddin Makassar.
- [4] Winarno F.G., 2004. Kimia Pangan dan Gizi, Penerbit Gramedia Pustaka Utama Jakarta.
- [5] Sarkono dan M. Ulfa. 2007. Kemampuan Antibakteri Virgin Coconut Oil (VCO) yang Dibuat Melalui Fermentasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus acidophilus* Serta Kombinasi Keduanya . Laporan Penelitian SPP/DPP Universitas Mataram.
- 6] Wibowo, D. 1989. *Bakteri Asam Laktat*. Dalam Kumpulan Hand Out Kursus Fermentasi Pangan. PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.

[7] Suhadijono dan S. Syamsiah. 1987. Pembuatan Minyak Kelapa Dengan Cara Fermentasi. Lanjutan Simposium Bioproses dalam Industri Pangan. Tanggal 13 – 14 Januari 1997 di Yogyakarta. PAU Pangan dan Gizi UGM. Liberty, Yogyakarta