

PENGARUH VARIASI PENAMBAHAN SIRUP FRUKTOSA CAIR SEBAGAI CRYOPROTECTANT, DAN PENAMBAHAN SARI KUBIS UNGU (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.f. *rubra*) ATAU JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) TERHADAP KUALITAS VEGETABLES-FROZEN YOGURT

Mary Martha Santoso

Jurusan Biologi/ Fakultas Teknobiologi
marymartha99@gmail.com

Abstrak - Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas frozen yogurt (froyo) vegetables yang dibuat dengan bahan tambahan berupa sari kubis ungu (*Brassica oleracea* var. *capitata* L. f. *rubra*) atau jambu biji (*Psidium guajava* L.). Tujuan lainnya adalah mengetahui ada atau tidaknya pengaruh sirup fruktosa cair sebagai agen cryoprotectant terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* Y-01 dalam froyo. Variabel dalam penelitian ini adalah penambahan sari buah dan sayuran, serta variasi penambahan sirup fruktosa cair, yaitu sebesar 0, 5, 10, 15, 25, 30, 35% (v/v). Parameter utama yang digunakan untuk menentukan kualitas froyo adalah pH, jumlah Bakteri Asam Laktat (BAL), kadar mikroba pencemar, dan Total Asam Tertitrasi (TAT). Sedangkan parameter tambahan berupa kadar gula reduksi, gula total, asam laktat, vitamin C, antosianin, jumlah BAL, subletal, dan uji probiotik in-vitro. Hasil percobaan menunjukkan bahwa penambahan sari kubis ungu atau jambu biji menghasilkan froyo sesuai dengan kualitas yang telah ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia, yaitu jumlah BAL $>10^7$ CFU/ml, pH sekitar 4,5, TAT sebesar 0,5-2%, bakteri koliform <10 /gram MPN dan *Salmonella* negatif/25 gram. Hasil penelitian juga diketahui penambahan sirup fruktosa cair yang paling baik adalah 30% (v/v) untuk froyo kubis ungu dan 20% (v/v) untuk froyo jambu biji.

Kata kunci : Kubis ungu, Jambu Biji, *Lactobacillus acidophilus* Y-01, BAL, froyo

Abstract - The aimed of this research was to know the qualities of vegetables froyo of purple cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L. f. *rubra*) or guava juice (*Psidium guajava* L.). Another purpose was to determine the proper addition of liquid fructose as the cryoprotectant agent to obtain a high level of viability of *Lactobacillus acidophilus* Y-01 in froyo. This research was conducted into two variables, liquid fructose, and fruit or vegetable juices additions. The variations of liquid fructose addition were 0, 5, 10, 15, 25, 30, 35% (v/v). The qualities of froyo were determined by the value of pH, the levels of total acids, the total Lactic Acid Bacteria, and contaminants microbes. The additional parameters were the levels of reducing sugar, total sugar, lactic acid, vitamin C, anthocyanin, subletal cells, and probiotic in-vitro assays. The results showed that vegetables froyo met the requirements as the standards based on Standar Nasional Indonesia qualities. The total Lactic Acid Bacteria (LAB) was more than 10^7 CFU/ml with the value of pH was approximately 4.5, total acid was from 0,5 until 2%, total coliform less than 10/gram and no *Salmonella* /25 gram. The best at liquid fructose addition were 30% (v/v) for Purple cabbage froyo and 25% (v/v) for Guava froyo.

Keywords: Purple cabbage, guava, *Lactobacillus acidophilus* Y-01, LAB, froyo

PENDAHULUAN

Saat ini produk probiotik menjadi sesuatu yang menjamur di kalangan masyarakat yang semakin sadar tentang betapa pentingnya kesehatan. Sebenarnya probiotik adalah kultur tunggal atau campuran dari mikroba hidup yang dikonsumsi oleh manusia atau hewan (Hanevaar, 1992). Salah satu produk probiotik yang paling tinggi tingkat konsumsinya adalah *frozen yogurt (froyo)*, yaitu yogurt yang dikonsumsi dalam bentuk es krim. Sedangkan yogurt sendiri adalah produk susu terkoagulasi (mengental) yang dihasilkan dari fermentasi asam laktat melalui aktivitas Bakteri Asam Laktat (BAL) (Fuller, 1992). Contohnya adalah spesies *Lactobacillus acidophilus* strain Y-01 yang digunakan dalam penelitian ini.

Froyo yang dihasilkan dari penelitian ini berbahan tambahan sari buah dan sayuran yang telah dikenal memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Hal ini didasarkan fakta bahwa banyak orang, terutama anak-anak, tidak suka mengonsumsi sayur dengan alasan berbau langu maupun berasa hambar. Demikian juga ada banyak orang yang tidak suka mengonsumsi buah, namun menggemari produk pangan yang mengandung ekstrak buah. Dengan adanya inovasi berupa *vegetables-froyo*, dapat dijadikan alternatif dalam mengonsumsi buah dan sayuran. Adapun jenis buah dan sayuran yang hendak digunakan peneliti sebagai bahan pembuatan *froyo* adalah kubis ungu (*Brassica oleracea* var. *capitata* L. f. *rubra*), dan jambu biji (*Psidium guajava* L.).

Salah satu langkah terpenting dalam proses pembuatan *froyo* adalah proses pemasukan yogurt cair ke dalam mesin pendingin khusus dengan suhu -4 sampai -6⁰C sehingga membeku membentuk *soft ice*. Proses pembekuan ini dapat membentuk kristal-kristal es yang berukuran besar dan dapat membunuh sel-sel bakteri probiotik yang terdapat dalam yogurt. Untuk mencegah hal tersebut, maka dibutuhkan suatu pelindung sel hidup yang dinamakan *cryoprotectant*. *Cryoprotectant* adalah suatu agen yang digunakan untuk menghindari terbentuknya kristal-kristal es besar yang dapat merusak sel dan mencegah keluarnya air terlalu banyak supaya sel-sel hidup tidak mengkerut karena mengalami kekeringan, sehingga viabilitasnya dapat dipertahankan (Rimayanti,

2005). Penggunaan sirup fruktosa cair sebagai *cryoprotectant* dapat menurunkan titik beku *froyo* sehingga pembentukan kristal-kristal es besar dapat dicegah (Wowk, 2007).

Froyo kubis ungu dan jambu biji yang ingin dibuat dalam penelitian ini harus memiliki kualitas yogurt sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI). Standar tersebut meliputi nilai pH yang berkisar 4,5, jumlah bakteri probiotik minimal 10^7 CFU/ml, Total Asam Tetrtrasi (TAT) 0,5-2,0%, dan jumlah total bakteri perusak yang rendah. Batas maksimum mikroba pencemar koliform adalah 10/gram MPN dan Salmonella adalah negatif/25 gram (BSN, 2009).

METODE PENELITIAN

Pembuatan Kultur Stok *Lactobacillus acidophilus* Y-01

Biakan murni *Lactobacillus acidophilus* Y-01 digores empat kuadran pada media MRS agar. Lalu dari MRS agar, diinokulasikan satu ose pada MRS agar miring (*slant*) lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan disimpan dalam pada suhu 4°C.

Pembuatan Kultur Stok Gliserol *Lactobacillus acidophilus* Y-01

Biakan murni *Lactobacillus acidophilus* Y-01 digores empat kuadran pada media MRS agar. Lalu dari MRS agar diinokulasikan satu ose pada MRS Broth. Selanjutnya 700 µl kultur dari MRS Broth ditambahkan dengan 300 µl gliserol, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, dan disimpan pada suhu -85°C sebagai larutan kultur stok gliserol. Penggunaan gliserol bertujuan untuk melindungi viabilitas sel dari kristal es yang terbentuk akibat pembekuan pada suhu yang sangat rendah.

3.4.22 Pembuatan *Froyo* Kubis Ungu

1 ose dari kultur *stock slant L.acidophilus* diinokulasikan ke dalam 2 ml MRS Broth dan diinkubasi pada suhu ruang selama 16 jam. Selanjutnya 2 ml MRS Broth sebelumnya diinokulasikan ke dalam 18 ml MRS Broth steril dan diinkubasi selama 16 jam pada suhu ruang. Langkah berikutnya, 18 ml MRS Broth sebelumnya diinokulasikan ke dalam 180 ml starter yang berupa campuran sari kubis ungu dan susu UHT (perbandingan 1:1) yang telah ditambahkan sukrosa 10% (b/v) dan dipasteurisasi, lalu diinkubasi selama 18 jam. Setelah itu

starter dimasukkan ke dalam 1,8 liter campuran sari kubis ungu dan susu UHT steril (perbandingan 1:1) yang telah ditambahkan sukrosa 10%, lalu diukur pH, total gula, gula reduksi, kadar asam laktat, jumlah BAL, dan TAT sebagai keadaan awal fermentasi (t_0). Setelah fermentasi selama 20 jam pada suhu ruang, yogurt kubis ungu diukur kembali pH, total gula, gula reduksi, kadar asam laktat, jumlah BAL jumlah mikroba pencemar, dan TAT sebagai keadaan akhir fermentasi (t_{20}). Selanjutnya yogurt kubis ungu dibagi dalam beberapa wadah plastik dengan volume yang sama. Masing-masing wadah plastik yang berisi yogurt ditambahkan dengan sirup fruktosa cair dengan variasi penambahan yang berbeda, yaitu 0,5,10,15, 25, 30, dan 35% (v/v) lalu didinginkan di dalam *freezer* dengan suhu $\pm -4^{\circ}\text{C}$ satu malam sambil *dimixer* setiap 3 jam sekali. Kemudian *froyo* kubis ungu dengan berbagai variasi penambahan sirup fruktosa cair diukur pH, total gula, gula reduksi, kadar asam laktat, jumlah BAL, jumlah mikroba pencemar, TAT, BAL subletal, dan organoleptis.

3.4.23 Pembuatan *Froyo* Jambu Biji

Satu ose dari kultur *stock L.acidophilus* diinokulasikan ke dalam 2 ml MRS *Broth* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 16 jam. Selanjutnya 2 ml MRS *Broth* sebelumnya diinokulasikan ke dalam 18 ml MRS *Broth* steril yang baru dan diinkubasi selama 16 jam pada suhu ruang. Langkah berikutnya, 18 ml MRS *Broth* sebelumnya diinokulasikan ke dalam 180 ml starter yang berupa campuran sari jambu biji dan susu UHT (perbandingan 1:1) yang telah ditambahkan sukrosa 5% (b/v) dan dipasteurisasi lalu diinkubasi selama 18 jam. Setelah itu starter dimasukkan ke dalam 1,8 liter campuran sari jambu biji dan susu UHT steril (perbandingan 1:1) yang telah ditambahkan sukrosa 5%, lalu diukur pH, total gula, gula reduksi, kadar asam laktat, jumlah BAL, TAT, dan kadar vitamin C sebagai keadaan awal fermentasi (t_0). Setelah fermentasi selama 20 jam pada suhu ruang, yogurt jambu biji diukur kembali pH, total gula, gula reduksi, kadar asam laktat, jumlah BAL jumlah mikroba pencemar, TAT, dan kadar vitamin C sebagai keadaan akhir fermentasi (t_{20}). Selanjutnya yogurt jambu biji dibagi dalam beberapa wadah plastik dengan volume yang sama. Masing-masing wadah plastik yang berisi yogurt ditambahkan dengan sirup fruktosa cair dengan penambahan yang berbeda, yaitu 0,5,10,15, 20, 25, dan 30% (v/v) lalu

didinginkan di dalam *freezer* dengan suhu $\pm -4^{\circ}\text{C}$ semalaman sambil dimixer setiap 3 jam sekali. Kemudian *froyo* jambu biji dengan berbagai variasi penambahan sirup fruktosa cair diukur pH, total gula, gula reduksi, kadar asam laktat, kadar vitamin C, jumlah BAL, jumlah mikroba pencemar, TAT, BAL subletal, dan organoleptis.

Pengujian

Pengujian Kadar Gula Total (TS)

Pengenceran sampel dilakukan dengan faktor pengenceran 10-500x, kemudian 0,5 ml sampel hasil pengenceran dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan ke dalam tabung tersebut 0,5 ml phenol 5% dan dikocok sampai merata. Selanjutnya 2,5 ml asam sulfat pekat ditambahkan, lalu dikocok dan dibiarkan selama 10 menit, dikocok kembali, lalu dibiarkan lagi pada suhu ruang selama 10 menit. Terakhir larutan sampel diamati pada absorbansi dengan panjang gelombang 488 nm.

Pengujian Kadar Gula Reduksi (DNS)

Pengenceran sampel dilakukan dengan faktor pengenceran 10-500x, kemudian masing-masing 1,5 reagen DNS dipipet ke dalam 1,5 ml larutan sampel hasil pengenceran dalam tabung reaksi tertutup aluminum foil. Selanjutnya campuran dipanaskan di atas suhu 90°C selama 5-15 menit sampai terbentuk warna merah kecoklatan, lalu ditambahkan 0,5 ml *Rochelle salt* 40% dengan tujuan warna yang terbentuk menjadi stabil. Terakhir larutan dimasukkan dalam kuvet dan mengukurnya pada absorbansi 575 nm.

Pengujian Kadar Asam Laktat (PHF)

Yang pertama harus dilakukan adalah deproteinasi protein dalam susu yang dilakukan dengan cara ditambahkan TCA 15 % ke dalam sampel dengan perbandingan 1:1 dan didiamkan selama 10 menit pada suhu 60°C dan diikuti oleh proses sentrifugasi dengan kecepatan tinggi selama 1 menit. Kemudian sebanyak 1 ml sampel supernatan hasil sentrifugasi ditambahkan dengan 6 ml H_2SO_4 pekat lalu dikocok merata, dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit, dan didinginkan dengan air sampai mencapai suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan 100 ul CuSO_4 4 % dan 200 ul PHF lalu dikocok merata, dibiarkan pada suhu

ruang selama 30 menit lalu amati absorbansi larutan warna biru pada panjang gelombang 570 nm.

Pengujian Kadar Asam Total tertitrasi (TAT)

Sejumlah 5 gram sampel dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml, dan diencerkan dengan aquades sampai batas, kemudian sampel diambil sebanyak 50 ml dan dimasukkan ke dalam gelas beaker, Selanjutnya ditambahkan tiga tetes indikator phenolftalein, lalu elektroda dari pH-meter dimasukkan dan larutan dititrasi dengan NaOH 0.1 N sampai terbentuk warna merah muda yang konstan.

Pengujian Derajat Keasaman (pH)

Sebelum digunakan pH meter dikalibrasi dahulu dengan buffer pH 4 dan pH 7. Selanjutnya 20 ml sampel dimasukkan ke dalam *beaker glass* kemudian dihomogenkan. Nilai pH diukur dengan menempatkan elektroda pada sampel, dan hasilnya dapat dilihat pada layar (AOAC, 1994).

Pengujian Jumlah Bakteri Asam Laktat (*Total Plate Count*)

Sebanyak 1 ml sampel yang telah diencerkan dituang (*pour plate*) secara aseptis pada media MRS agar yang telah memadat, dihomogenisasi, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Kondisi cawan petri saat diinkubasi harus dalam keadaan terbalik. Jumlah bakteri asam laktat ditentukan dengan metode hitungan cawan dengan menggunakan analisis *Standart Plate Count* (SPC) (Dewan Standarisasi Nasional, 1992).

Pengujian Cemaran Mikroba Kontaminan (MPN)

Tahap perkiraan

Dipersiapkan 3 buah tabung reaksi berisi 5 mL media LB 3x kuat, dan diberi kode 10 mL pada masing-masing tabung reaksi, kemudian dipersiapkan juga 6 buah tabung reaksi berisi 10 mL media LB dengan konsentrasi 1x kuat, 3 buah tabung reaksi dengan kode 1 mL, dan 3 buah tabung reaksi dengan kode 0,1 mL. Masing-masing tabung reaksi disertai dengan tabung Durham. Selanjutnya masing-masing tabung berisi media LB 3x kuat tersebut diisi dengan 10 ml sampel, lalu tabung berkode 1 mL dan 0,1 mL diisi dengan sampel masing-masing sebanyak 1 mL dan 0,1 mL. Terakhir semua tabung diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gas dalam tabung Durham.

Tahap penegasan

Dipersiapkan tabung reaksi berisi media BGLB sejumlah tabung-tabung positif pada tahap perkiraan, lalu diberi kode sesuai dengan tabung-tabung positif dan diletakkan pula tabung Durham dalam posisi terbalik dalam tiap-tiap tabung reaksi. Kemudian satu ose kultur diinokulasikan dari tabung-tabung positif pada tahap perkiraan dan ditanam pada media BGLB, lalu media tersebut diinkubasi dengan kondisi yang sama dengan sebelumnya. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gas pada tabung Durham (Merck,1999).

Pengujian Cemar Mikroba Kontaminan *Salmonella*

1 ml sampel diinokulasikan ke dalam LB Broth lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Selanjutnya 1 ml sampel dari LB Broth diinokulasikan ke dalam dua buah tabung yang masing-masing berisi 10 ml SC dan TT broth, dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Kemudian masing-masing 100 µL sampel dari SC dan TT digores secara 4 kuadran pada media BS, XLD, dan HE dan hasilnya diamati setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37⁰C.

Uji Bakteri Subletal

Sebanyak 1 ml sampel diencerkan dengan NaCl 0,9% steril (faktor pengenceran 10⁻⁸), lalu 0,1 ml sampel dari hasil pengenceran diinokulasikan ke dalam cawan petri steril yang berisi media NA dengan metode *spread plate*, kemudian diinkubasi selama 4 jam. Kemudian pada cawan petri yang sama media NA yang tadi ditumpuk oleh media MRS agar, lalu tunggu hingga membeku. Terakhir menginkubasi cawan petri selama 48 jam dan melakukan pengamatan serta penghitungan bakteri subletal dengan metode TPC. Rumus jumlah bakteri subletal adalah sebagai berikut.

$$\Sigma \text{BAL Subletal} = \Sigma \text{BAL pada Media NA+MRS agar} - \Sigma \text{BAL pada Media MRS agar}$$

Kadar Vitamin C

Sampel yang akan diuji *disentrifuge* dahulu untuk memisahkan filtratnya, kemudian sebanyak 25 ml filtrat sampel diambil dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, kemudian ditambahkan 1 ml larutan amilum 1 %. Kemudian larutan sampel dititrasi dengan standar iodium 0,01 N (Sudarmadji *et al.*,1984).

Uji Probiotik *In Vitro*

Uji Ketahanan *Bile Salt*

Disiapkan 4 tabung yang masing-masing berisi 9 ml MRS Broth dan telah ditambahkan dengan garam *Bile* dengan kadar 0, 0.3, 0.5 dan 1% (w/v). Selanjutnya ke dalam masing-masing tabung diinokulasikan 1 ml kultur *L.acidophilus* yang telah berusia 16 jam. Kemudian ketahanannya diamati dengan metode TPC setelah inkubasi 24 jam.

Uji Ketahanan Terhadap pH Asam

Disiapkan 3 tabung yang masing-masing berisi 9 ml MRS Broth dan telah diadjust pH-nya menjadi bernilai 2, 3, dan 4. Selanjutnya ke dalam masing-masing tabung diinokulasikan 1 ml kultur *L.acidophilus* yang telah berusia 16 jam. Kemudian ketahanannya diamati dengan metode TPC setelah inkubasi 4 jam.

Uji Aktivitas Antimikrobia

Pada uji ini digunakan mikroba indikator berupa *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Langkah pertama adalah masing-masing isolat *S.aureus* dan *E coli* diinokulasikan sebanyak 100 µl dengan metode *spread plate*. Kemudian dipasang masing-masing 4 buah *cylinder cup* pada cawan petri. Selanjutnya dimasukkan inokulum *L.acidophilus* berusia 16 jam ke dalam masing-masing lubang *cylinder cup* tersebut sebanyak 100 µl dan diinkubasi selama 24 jam. Daerah penghambatan *L.acidophilus* terhadap bakteri patogen dapat dilihat dari terbentuknya zona bening.

Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan membagikan angket kepada 30 orang panelis. Pada angket tersebut panelis dapat memberikan penilaian tentang rasa manis, rasa asam, aroma, warna, tekstur, kehomogenan, dan kesukaan dari *vegetables-froyo*.

Analisis Statistika

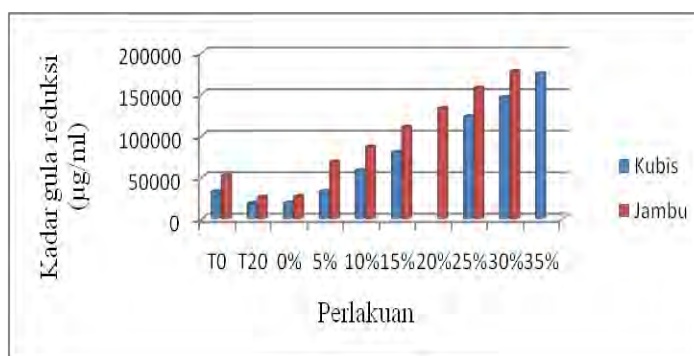
Desain penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Data yang diperoleh berupa data parametrik yang akan diuji normalitas dan homogenitasnya. Jika data yang diperoleh sudah berdistribusi normal dan homogen maka data akan diuji dengan Anova satu arah. Tetapi jika data yang diperoleh tidak berdistribusi normal dan tidak homogen,

maka data akan diuji dengan metode Kruskal-Wallis dan Mood's Median. Sedangkan untuk data hasil uji organoleptis digunakan metode statistik non-parametrik yaitu Uji Friedman.

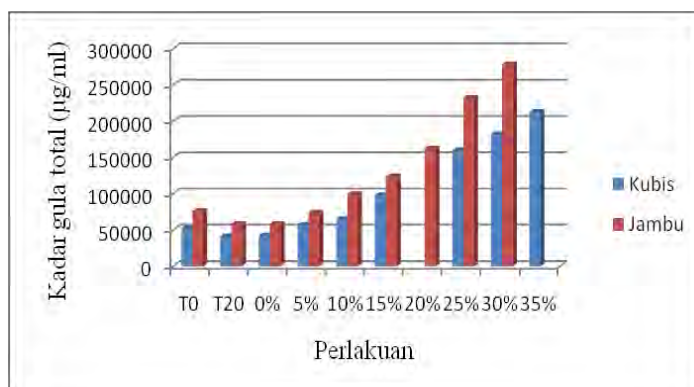
HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Mikrobiologis dan Kimiawi *Frozen Yoghurt* Kubis Ungu dan Jambu Biji

Kadar Gula Reduksi dan Gula Total



Gambar 1 Grafik Kadar Gula Reduksi Yogurt dan *Froyo* Kubis/ Jambu Pada Awal Serta Akhir Fermentasi, dan Berbagai Penambahan Sirup Fruktosa Cair



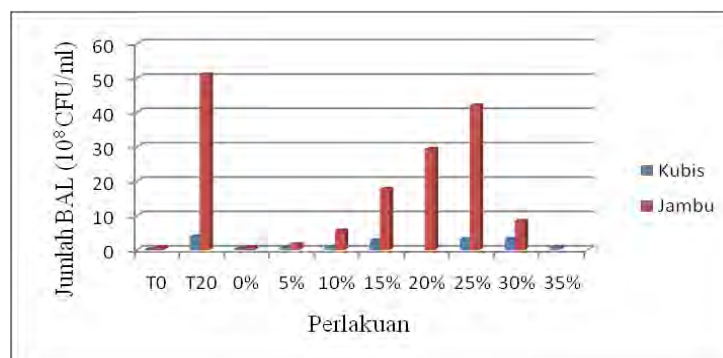
Gambar 2 Grafik Kadar Gula Total Yogurt dan *Froyo* Kubis/Jambu Pada Awal Serta Akhir Fermentasi, dan Berbagai Penambahan Sirup Fruktosa Cair

Gambar 1 dan 2 menunjukkan perbedaan kadar gula reduksi dan gula total pada yogurt kubis ungu dan jambu biji. Pada kondisi setelah fermentasi (T20), kadar gula reduksi dan gula total menurun karena nutrisi berupa gula, baik yang berasal dari sukrosa, laktosa dalam susu, maupun gula yang terdapat pada sari kubis ungu dan jambu biji telah dimetabolisme oleh bakteri selama proses fermentasi. Jenis gula yang umumnya digunakan untuk pertumbuhan BAL adalah laktosa dan glukosa (Westhoff, 1980). Soeparno (1992) mengatakan BAL akan mengkonsumsi gula reduksi sebagai sumber karbon untuk aktivitas metabolisme,

mempertahankan hidup, dan menghasilkan produk metabolik, seperti asam-asam organik.

Semakin besar penambahan sirup fruktosa cair, kadar gula reduksi dan gula total semakin meningkat. Hal ini terjadi karena sirup fruktosa cair yang ditambahkan mengandung berbagai jenis gula sehingga kadar gula reduksi dan gula total meningkat (Gambar 1 dan 2).

Uji Jumlah Bakteri Asam Laktat



Gambar 3 Grafik Jumlah BAL Yogurt dan *Froyo* Kubis/Jambu Pada Awal Serta Akhir Fermentasi, dan Berbagai Penambahan Sirup Fruktosa Cair

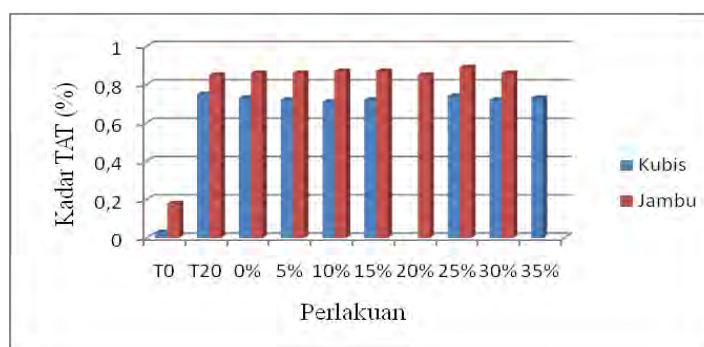
Gambar 3 menunjukkan perbedaan jumlah BAL pada yogurt kubis ungu dan jambu biji. Jumlah BAL meningkat (T20) setelah fermentasi dibandingkan sebelum fermentasi (T0). Hal ini disebabkan *L.acidophilus* telah menggunakan berbagai nutrisi seperti gula, protein, dan vitamin untuk pertumbuhannya. Hal ini sesuai dengan pendapat Salminen & Wright (1998) yang menyatakan bahwa BAL memanfaatkan gula sebagai sumber energi dan pertumbuhannya.

Semakin besarnya sirup fruktosa cair yang ditambahkan, viabilitas BAL semakin meningkat, namun saat penambahan sebesar 35% (v/v) pada kubis ungu dan 30% (v/v) pada jambu biji, viabilitas BAL menurun. Gambar yang disajikan juga menunjukkan viabilitas BAL *froyo* lebih rendah daripada viabilitas setelah fermentasi. Fenomena ini disebabkan bakteri yang disimpan pada suhu ekstrim, seperti suhu rendah dapat mengalami kerusakan pada komponen strukturalnya atau kehilangan kemampuan fungsionalnya untuk mensintesis enzim tertentu. Hal tersebut dapat menyebabkan bakteri tersebut cedera atau mati (Nisa *et al.*, 2008).

Sirup fruktosa cair yang digunakan terdiri atas komposisi fruktosa 55%, glukosa 38%, dan oligosakarida 7% (v/v) yang dapat berperan sebagai agen *cryoprotectant*. Menurut Wowk (2007) *cryoprotectant* berfungsi melindungi

membran plasma sel bakteri. Dengan penambahan agen *cryoprotectant* yang semakin besar, maka viabilitas *L.acidophilus* dalam *froyo* semakin meningkat. Namun penambahan sirup fruktosa cair 35% (v/v) pada kubis dan 30% (v/v) pada jambu, agen *cryoprotectant* tidak berfungsi lagi melindungi BAL yang ditandai dengan menurunnya viabilitas *L.acidophilus*. Hal ini kemungkinan disebabkan karena jumlah sirup fruktosa cair yang terlalu banyak sehingga menyebabkan keadaan tekanan osmotik yang tidak seimbang di dalam dan luar sel. Tekanan osmotik di luar sel lebih tinggi daripada di dalam sel sehingga cairan dari dalam sel akan keluar menuju ke luar sel, sehingga sel akan mengalami krenasi dan mati (Nisa *et al.*, 2008).

Uji Jumlah Total Asam Tertitrasi (TAT)

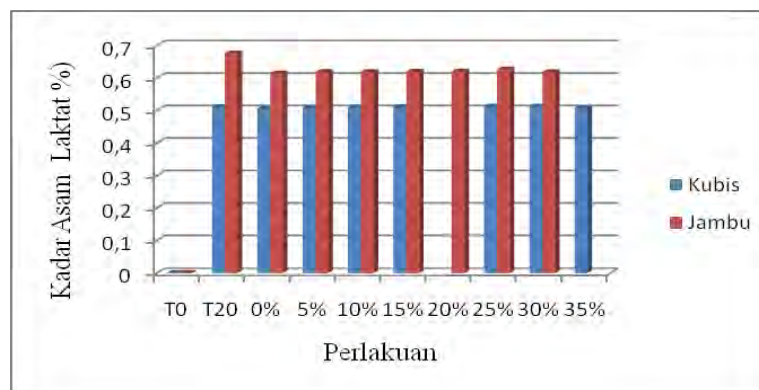


Gambar 4 Grafik Kadar TAT Yogurt dan *Froyo* Kubis/ Jambu Pada Awal Serta Akhir Fermentasi, dan Berbagai Penambahan Sirup Fruktosa Cair

Gambar 4 menunjukkan perbedaan hasil pengukuran jumlah TAT pada yogurt kubis ungu dan jambu biji. Jumlah TAT meningkat setelah fermentasi (T20) dibandingkan sebelum fermentasi (T0). Peningkatan jumlah TAT terjadi karena adanya aktivitas bakteri *L.acidophilus* yang dapat mengubah gula menjadi asam organik (Buckle *et al.*, 1985). *L.acidophilus* yang digunakan dalam penelitian ini adalah BAL homofermentatif yang hasil metabolisme utamanya berupa asam laktat (Fardiaz, 1992). Hasil uji statistik data jumlah TAT pada *froyo* kubis ungu dan jambu biji semuanya menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan pada setiap penambahan sirup fruktosa cair. Hal ini disebabkan pembuatan yogurt menjadi *froyo* dilakukan di *freezer* yang memiliki suhu sangat rendah ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) sehingga aktivitas pertumbuhan dan metabolisme BAL, seperti produksi asam laktat terhenti. Perubahan sedikit jumlah TAT kemungkinan disebabkan karena terjadi pertumbuhan dan metabolisme saat proses pembekuan

tengah berlangsung, yaitu dari suhu ruang menuju suhu dingin (*freezer*). Hal ini sesuai pendapat Hammes *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa *L.acidophilus* merupakan kelompok bakteri mesofil dengan suhu pertumbuhan optimalnya 35-45°C, tetapi pada suhu kurang lebih 15°C tidak terjadi pertumbuhan.

Uji Kadar Asam Laktat



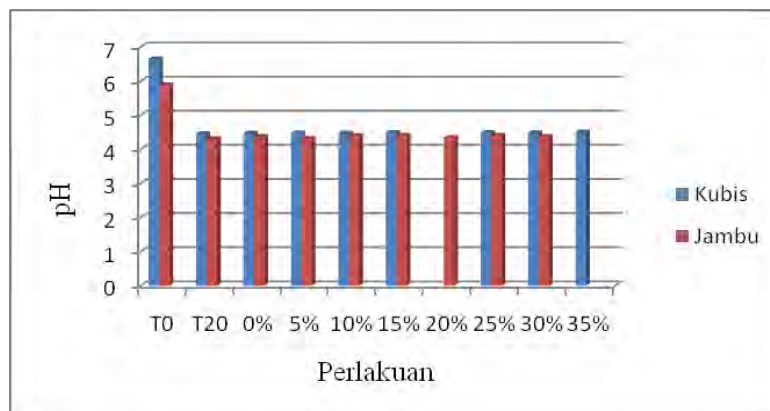
Gambar 5 Grafik Kadar Asam Laktat Yogurt dan *Froyo* Kubis/ Jambu Pada Awal Serta Akhir Fermentasi, dan Berbagai Penambahan Sirup Fruktosa Cair

Gambar 5 menunjukkan perbedaan kadar asam laktat pada yogurt kubis ungu dan jambu biji. Kadar asam laktat meningkat setelah fermentasi (T20) dibandingkan sebelum fermentasi (T0). Hal ini disebabkan BAL dapat memetabolisme gula yang terdapat dalam media menjadi asam laktat dengan bantuan enzim laktat dehidrogenase melalui jalur Embden-Meyerhoff Parnas (EMP) (Robinson & Tamime, 1981). Pernyataan ini sesuai pendapat Pramono *et al.* (2008) yang mengatakan semakin banyak jumlah BAL homofermentatif, maka akan semakin banyak produk metabolik yang dihasilkan, yaitu asam laktat.

Hasil uji statistik kadar asam laktat pada *froyo* kubis ungu dan jambu biji semuanya menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan pada setiap penambahan. Hal ini dikarenakan pembuatan yogurt menjadi *froyo* dilakukan di *freezer* yang memiliki suhu sangat rendah ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) sehingga aktivitas pertumbuhan dan metabolisme BAL, seperti produksi asam laktat terhenti. Perubahan sedikit kadar asam laktat kemungkinan disebabkan karena terjadi metabolisme saat proses pembekuan tengah berlangsung, yaitu dari suhu ruang menuju suhu dingin (*freezer*). Hal ini sesuai pendapat Hammes *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa *L.acidophilus* merupakan kelompok bakteri mesofil dengan suhu pertumbuhan

optimalnya 35-45°C, tetapi pada suhu kurang lebih 15°C tidak terjadi pertumbuhan.

Uji Nilai pH

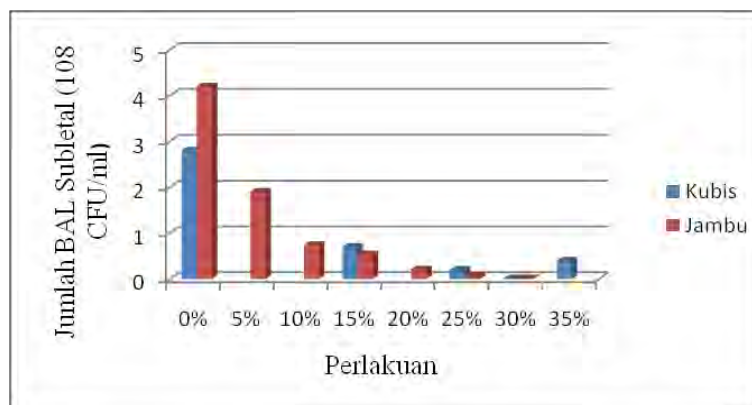


Gambar 6 Grafik Nilai pH Yogurt dan *Froyo* Kubis/ Jambu Pada Awal Serta Akhir Fermentasi, dan Berbagai Penambahan Sirup Fruktosa Cair

Gambar 6 menunjukkan perbedaan hasil pengukuran nilai pH pada yogurt kubis ungu dan jambu biji. Nilai pH meningkat setelah fermentasi (T20) dibandingkan sebelum fermentasi (T0). Hal ini disebabkan asam laktat yang dihasilkan akan diskresikan keluar sel bakteri, dan terakumulasi dalam media sehingga dapat menurunkan nilai keasaman (pH) dari media tersebut. Semakin rendah nilai pH, maka semakin tinggi juga konsentrasi H^+ yang dilepaskan ke media (Widowati & Misgiyarta, 2002). Nilai pH sari kubis ungu dan jambu biji pada waktu sebelum fermentasi yang awalnya berkisar 6 menjadi sekitar 4,5 sesudah fermentasi. Hasil ini sesuai pendapat Buckle *et al.* (1985) yang mengatakan setelah proses fermentasi berlangsung akan terjadi peningkatan produk berupa asam yang menyebabkan penurunan nilai pH.

Hasil uji statistik data pH pada *froyo* kubis ungu dan jambu biji semuanya menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan untuk setiap penambahan sirup fruktosa cair. Hal ini disebabkan pembuatan yogurt menjadi *froyo* dilakukan di *freezer* yang memiliki suhu sangat rendah ($\pm 4^0C$) sehingga aktivitas pertumbuhan dan metabolisme BAL, seperti produksi asam laktat terhenti. Tidak adanya produksi asam laktat inilah yang menyebabkan nilai pH untuk setiap penambahan sirup fruktosa cair menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan.

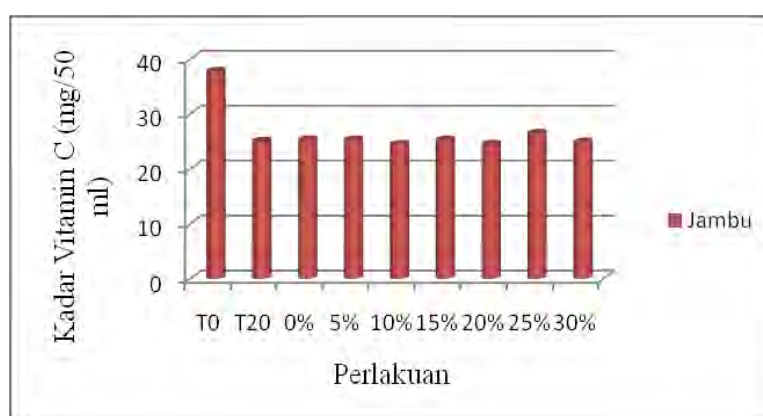
Uji Jumlah BAL Subletal



Gambar 7 Grafik Jumlah BAL Subletal *Froyo* Kubis/ Jambu Pada Berbagai Penambahan Sirup Fruktosa Cair

Gambar 7 menunjukkan hasil pengukuran jumlah BAL subletal pada *froyo* kubis ungu serta jambu biji. Semakin tinggi penambahan sirup fruktosa cair, maka jumlah BAL subletal atau yang cedera semakin menurun. Fenomena ini disebabkan karena gula yang terdapat dalam sirup fruktosa cair berfungsi sebagai agen *cryoprotectant*. Dengan penambahan agen *cryoprotectant* yang semakin besar, maka viabilitas *L.acidophilus* dalam *froyo* semakin meningkat, sehingga jumlah bakteri subletal semakin menurun. Berdasarkan hasil penelitian ini, sirup fruktosa cair maksimal yang ditambahkan adalah sebesar 25% (v/v) untuk *froyo* jambu biji dan 30% (v/v) untuk kubis ungu, karena pada penambahan sebesar 30% dan 35% (v/v), kemungkinan sirup fruktosa cair justru menjadi pemicu terjadinya krenasi sel, sehingga jumlah BAL subletal semakin bertambah banyak.

Uji Kadar Vitamin C



Gambar 8 Grafik Kadar Vitamin C Yogurt dan *Froyo* Jambu Pada Awal Serta Akhir Fermentasi, dan Berbagai Penambahan Sirup Fruktosa Cair

Gambar 8 menunjukkan perbedaan hasil pengukuran kadar Vitamin C pada yogurt jambu biji. Kadar Vitamin C menurun setelah fermentasi (T20) dibandingkan sebelum fermentasi (T0). Hal ini disebabkan BAL menggunakan vitamin C sebagai nutrisi kompleks dalam sel agar dapat mengoptimalkan pertumbuhannya (Surono, 2004).

Hasil uji statistik kadar Vitamin C pada *froyo* jambu biji menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan untuk setiap penambahan sirup fruktosa cair. Hal ini disebabkan metabolisme BAL tidak terjadi pada suhu *freezer* (-4°C). Perubahan sedikit kadar vitamin C kemungkinan disebabkan karena terjadi metabolisme saat proses pembekuan tengah berlangsung, yaitu dari suhu ruang menuju suhu dingin (*freezer*).

Uji Kadar Antosianin



Gambar 9 Grafik Kadar Antosianin Yogurt dan *Froyo* Kubis Pada Awal Serta Akhir Fermentasi, dan Penambahan Sirup Fruktosa Cair Terbaik

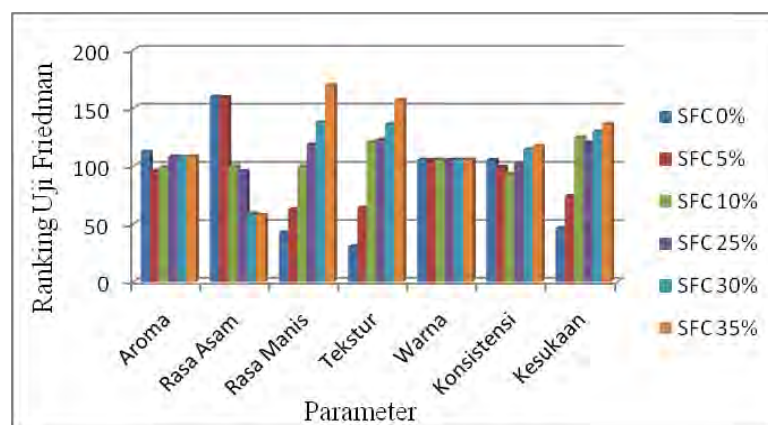
Gambar 9 menunjukkan perbedaan hasil pengukuran kadar antosianin sebelum (T0) dan sesudah fermentasi (T20). Kadar antosianin menurun setelah fermentasi dibandingkan sebelum fermentasi. Hal ini diduga disebabkan oleh degradasi antosianin akibat adanya proses oksidasi. Oksidasi terjadi karena antosianin berada pada bentuk yang tidak stabil yaitu basa kuinoidal dan karbinol (Arthey & Ashurst, 2001). Adanya struktur yang tidak stabil tersebut memudahkan terjadi oksidasi antosianin akibat adanya oksigen dan cahaya selama proses fermentasi (Zubaidah *et al.*, 2008). Sedangkan kadar antosianin pada *froyo* kubis ungu menunjukkan perbedaan tidak signifikan dengan kadar antosianin setelah fermentasi. Hal ini kemungkinan disebabkan penyimpanan pada suhu

rendah dapat mencegah degradasi antosianin karena sebaliknya suhu yang tinggi dapat memicu terjadinya kerusakan antosianin (Putra, 2012).

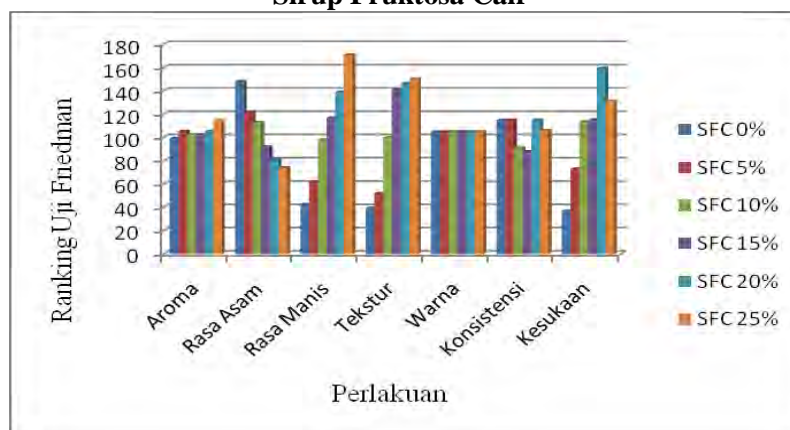
Uji Kadar Mikroba Pencemar

Hasil percobaan menunjukkan kadar mikroba pencemar berupa bakteri koliform dan *Salmonella* pada yogurt serta *froyo* kubis ungu dan jambu biji telah memenuhi prasyarat SNI, yaitu < 10/gram MPN dan *Salmonella* adalah negatif/25 gram (BSN, 2009).

Uji Organoleptis



Gambar 9 Grafik Hasil Uji Organoleptis *Froyo* Kubis Pada Beberapa Penambahan Sirup Fruktosa Cair



Gambar 10 Grafik Hasil Uji Organoleptis *Froyo* Jambu Pada Beberapa Penambahan Sirup Fruktosa Cair

Keterangan : SFC singkatan dari Sirup Fruktosa Cair

Dari hasil uji statistik organoleptis pada *froyo* kubis ungu dan jambu biji untuk parameter aroma, warna, dan konsistensi, semuanya menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan untuk setiap penambahan sirup fruktosa cair.

Dari hasil uji statistik organoleptis pada *froyo* kubis ungu dan jambu biji untuk parameter rasa asam, rasa manis, tekstur, dan kesukaan, semuanya menunjukkan perbedaan signifikan untuk setiap penambahan sirup fruktosa cair.

Gambar 9 dan 10 menunjukkan semakin tinggi penambahan sirup fruktosa cair, maka tingkat rasa asam semakin rendah. Hal ini disebabkan rasa asam yang semakin berkurang karena penambahan gula berupa fruktosa. Sebaliknya, semakin tinggi penambahan sirup fruktosa cair, maka tingkat kemanisan *froyo* semakin tinggi. Hal ini disebabkan rasa manis yang semakin bertambah karena penambahan sirup fruktosa cair.

Ditinjau dari segi tekstur, semakin tinggi penambahan sirup fruktosa cair, maka semakin tinggi tingkat kelembutan *froyo*. Hal ini disebabkan karena sirup fruktosa cair yang berfungsi sebagai bahan pemanis dalam *froyo* dapat menurunkan titik beku dan mencegah pembentukan kristal-kristal es sehingga *froyo* yang dihasilkan memiliki tekstur yang lebih lembut (Mahawan, 2012).

Ditinjau dari tingkat kesukaan, semakin besar penambahan sirup fruktosa cair, maka tingkat kesukaan konsumen semakin tinggi sampai pada batas maksimal penambahan sirup sebesar 30% (v/v) pada *froyo* kubis ungu dan 20% (v/v) pada *froyo* jambu biji. Hal ini kemungkinan disebabkan sirup fruktosa cair yang ditambahkan dapat meningkatkan citarasa dan tekstur yang lembut sehingga meningkatkan penerimaan dan kesukaan konsumen (Mahawan, 2012). Artinya *froyo* yang paling sesuai dengan selera panelis adalah *froyo* kubis ungu dengan penambahan sirup fruktosa cair 30% (v/v) dan *froyo* jambu biji dengan penambahan sirup fruktosa cair 20% (v/v).

Uji Probiotik *In-Vitro*

Uji Probiotik *In-Vitro* terdiri dari tiga parameter, yaitu ketahanan terhadap pH asam, ketahanan terhadap *Bile Salt*, dan sifat antimikrobial. *L.acidophilus* memiliki ketahanan terhadap pH asam. Salah satu standar yang digunakan untuk kultur BAL dapat digunakan sebagai agen probiotik adalah ketahanannya dalam pH asam (Itoh, 1992). Menurut Drasar & Barrow, (1985) keasaman pada saluran pencernaan dapat berbeda-beda dengan tingkat keasaman paling tinggi sekitar 2.

Tagg (1976) melaporkan bahwa bakteri asam laktat mempunyai toleransi pH dengan rentang yang luas. HCl (asam lambung) adalah asam kuat yang terdisosiasi dalam medium dan mampu menurunkan pH medium tanpa menembus membran sel bakteri. Adaptasi membran sel bakteri untuk membatasi transpor proton merupakan cara BAL untuk resisten terhadap pH asam. Adaptasi tersebut meliputi perubahan komposisi asam lemak dan fosfolipid membran (Puspawati *et al.*, 2010).

Meskipun mampu bertahan pada kondisi dengan pH asam, namun pertumbuhan BAL menjadi lebih lambat. Selain itu sel bakteri juga dapat mengalami kerusakan sehingga viabilitasnya menurun (Susanti *et al.*, 2007). Hal itulah yang menyebabkan viabilitas *L.acidophilus* pada pH asam menurun dibandingkan kondisi awal. Semakin tinggi tingkat keasaman media, viabilitas juga semakin menurun.

Selain pH asam, *L.acidophilus* memiliki ketahanan terhadap berbagai konsentrasi garam *Bile* atau garam empedu sintetik yang meliputi 0,3 0,5, dan 1% (b/v). Pada bakteri yang tidak tahan terhadap garam empedu, perubahan permeabilitas sel dan kebocoran materi intraseluler menyebabkan lisis sel, namun pada BAL, sel tidak mengalami kebocoran materi intraseluler yang terlalu besar sehingga tidak sampai mengalami lisis dan mampu bertahan (Noh & Gilliland, 1993). Semakin tinggi jumlah garam empedu yang ditambahkan, viabilitas sel juga semakin menurun. Hal ini disebabkan aktivitas enzim β -galaktosidase terhadap garam empedu meningkat sehingga permeabilitas membran sel meningkat dan menyebabkan materi intraseluler banyak yang keluar dari sel (Ngatirah *et al.*, 2000).

Hasil uji probiotik *in vitro* menunjukkan bahwa *L.acidophilus* memiliki sifat anti mikrobial. *Lactobacillus* dapat menghasilkan antibakteri, karena *Lactobacillus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Hardiningsih *et al.*, 2006).

Asam laktat yang tidak terdisosiasi merupakan asam lipofilik yang pada kondisi tidak terdisosiasi dapat melakukan penetrasi ke membran sel dan pada pH intraseluler yang lebih tinggi akan terdisosiasi memproduksi ion hidrogen yang dapat mengganggu fungsi metabolik seperti translokasi substrat dan fosforilasi

oksidatif. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa asam laktat dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Ratanapibulsawat *et al.*, 2005). Perumbuhan *Salmonella* dihambat oleh asam laktat pada pH lebih rendah dari 4.4 (Naidu & Clemens, 2000).

Hasil positif pada uji antimikrobal ini ditunjukkan terbentuknya zona bening pada area sekitar *well cylinder cup*. Zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh BAL yang memproduksi asam laktat, asam-asam organik lain, hidrogen peroksida, serta senyawa-senyawa lain yang bersifat antimikroba (Yang, 2000).

DAFTAR PUSTAKA

- Arthey, D and P.R., Ashurst. 2001. Fruit Processing, Nutrition, Product, and Quality Management. 2nd Edition. An Aspen Publication, Maryland
- Barker, S.B. and W.H. Summerson. 1941. The colorimetric determination of lactic acid in biological material. *Journal of Biological Chemistry* 138: 535-554.
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H., and Wooton, M. 1987. *Ilmu Pangan*. Diterjemahkan oleh Hari Purnomo dan Adiono. UI-Press. Jakarta.
- Deeth, H.C. and Tamime, A.Y. (1981) *Journal of Food Protection*, 44, 78.
- Dewan Standardisasi Nasional. 1995. Standard Nasional Indonesia 01 – 3713 – 1995. Es Krim. Standard Nasional Indonesia, Jakarta.
- Fardiaz S.1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: PT.Gramedia
- Hardiningsih, Riyanti., Yulinery, Tintin. Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat *Lactobacillus* pada pH Rendah. *Jurnal Biodiversitas* Volume 7, Nomor 1 Januari 2006 Halaman: 15-17
- Hamaryani, E Ngatirah, Rahayu ES, Utami, T. 2001. Ketahanan dan Viabilitas Probiotik Bakteri Asm Laktat selama Proses Pembuatan Kultur Kering dengan Metode Freeze and Spray Drying. . *J. Teknologi dan Industri Pangan*. XII: 126-132.
- Hammes WP, Brandt MJ, Francis KL, Rosenheim J, Seitter MFH, Vogelmann SA (2005). Microbial ecology of cereal fermentation. *Int. J. Food Microbiol.*, 16: 4-11.
- Havenaar, R., and H. Jos, J. Huis in't Veld. 1992. *Probiotics: A General View in The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*. Wood, B.J.B. (ed.). New York: Blackie Academic and Profesional.

- Itoh, T., 1992. Functional Benefits from lactic acid bacteria used incultured milk. *Animal Science Technology* 63: 1278-1279
- Mahawan, Alim. 2012. Pengaruh Penggunaan Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas L*) Sebagai Bahan Tambahan Terhadap Mutu Es Krim. *Skripsi*. Universitas Hassanudin, Makassar.
- Miller GL (1959) Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal Chem* 31:426-428.
- Nisa, Choirun, Fithri; Kusnadi, Johni, dan Chrisnasari, Ruth. 2008. Viabilitas dan Deteksi Sublethal Bakteri Probiotik pada Susu Kedelai Fermentasi Instan Metode Pengeringan Beku (Kajian Jenis Isolat dan Konsentrasi Sukrosa Sebagai Krioprotektan). Jurusan Teknologi Hasil Pertanian–Fak. Teknologi Pertanian–Universitas Brawijaya. pp. 40-41.
- Pramono, Yoyok., Rahayu, Endang., Suparmo., Utami, Tyas. 2008. Karakteristik Fermentasi Daging Sapi dalam Berbagai Konsentrasi Larutan Garam. *Jurnal Agribis dan Industri Pertanian* Volume 7, Nomor 2. Program Studi Agribisnis Pascasarjana Universitas Sriwijaya
- Puspawati, Nyoman. Robiatul, Dede. 2010. Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri AsaM Laktat yang Diisolasi dari Air Susu Ibu pada Proses Pengeringan Beku.
- Ratanapibulsawat, C., P. Kroujkaew, O. Sadahiro, and S. Nitisinprasert. 2005. Screening and characterisation of lactic acid bacteria producing antimicrobial substance againts *Staphylococcus aureus*. *Kasetsart Journal (Natural Science)* 39 : 284-293.
- Salminen, S. and A. von Wright. 1998. *Lactic Acid Bacteria*. New York:Marcell Dekker Inc.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., & Suhardi. 1984. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta :Liberty.
- Susanti, Nuraida. Hartanti AW.2007. Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria Profile of Breast Milk and Their Potency As Probiotics 10th Asean Food Conference.. Food For Madkind Contribution of Science and Technology. Kuala Lumpur. Malaysia
- Wowk, Bryant.2007. *How Cryoprotectans Work*. Diakses 12 September 2012. Available: www.alcor.org
- Yang, Z. 2000. Antimicrobial Compounds And Extracellular Polysaccharides Produced By Lactic Acid Bacteria: Structure and Properties. Department of Food Technology University of Helsinki.
- Zubaidah, Elok., Liasari, Yusnita., Saparianti, Ella. 2008. Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2 pada Produk Probiotik Berbasis Buah Murbei. *Jurnal Teknologi Pertanian* 9:59-68