

KAJIAN JUMLAH SEL TERLEPAS DAN KARAKTER *CARRIER* PADA BERBAGAI KONSENTRASI TEPUNG PEPAYA DAN LAMA PENYIMPANAN SEL TERIMOBIL DALAM *BEADS*

(Study of total released cells and carrier characteristic on various papaya flour concentration and storage time of immobilized cells in beads)

Claudia Christiane^{a*}, Theresia Endang Widoeri Widyastuti^a, Indah Kuswardhani^a

^a Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Indonesia

* Penulis korespondensi
Email: t.claudiachristiane@gmail.com

ABSTRACT

*Papaya flour added as prebiotic can influencing the cell growth (*Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051) and beads texture, also total released cells from the beads thus affecting carrier characteristic. The purpose of this research is to study the interaction of papaya flour concentration and storage time, also effect of each factor to total released cells and carrier characteristic. The research design used is Factorial Randomized Block Design (RBD) with two factors namely concentration of papaya flour consisting of two levels, which were 3% (w/v) and 6% (w/v) and the storage time consisting of five (5) levels, which were 0, 7, 14, 21, and 28 days. Each treatment combinations are repeated three times. The analyzed variables were total released cells, pH, total acidity from milk as carrier and also the total of immobilised cells. Data analyzed statistically using ANOVA test (Analysis of Varians) at $\alpha = 5\%$ and continued with DMRT (Duncan's Multiple Range Test) at $\alpha = 5\%$ to determine which level of treatment that gives significant differences. Papaya flour concentration and storage time give significant interaction effect to the total released cells and total acidity, also significant effect of each factor to carrier's pH. The higher concentration of papaya flour and the longer storage time increased the total released cells and total acidity. The significant increase of total acidity found in combination of various concentration of papaya flour with 14 to 28 days of storage. The higher concentration of papaya flour or the longer storage time decreased the pH value.*

Keywords: *immobilized Lactobacillus acidophilus FNCC 0051, papaya flour, storage time*

ABSTRAK

Tepung pepaya yang ditambahkan sebagai sumber komponen prebiotik dapat mempengaruhi pertumbuhan sel (*Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051) dan tekstur beads maupun banyaknya sel yang terlepas dari *beads* sehingga dapat berpengaruh juga terhadap karakter *carrier*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh interaksi konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan serta pengaruh masing-masing faktor tersebut terhadap jumlah sel yang terlepas dan karakter susu sebagai *carrier*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Faktorial dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari dua faktor yaitu konsentrasi tepung pepaya yang terdiri dari 2 (dua) level, yaitu 3% (b/v) dan 6% (b/v), serta lama penyimpanan yang terdiri dari (5) level, yaitu 0, 7, 14, 21, dan 28 hari. Masing-masing kombinasi perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Variabel yang diuji adalah jumlah sel yang terlepas dari dalam *beads*, pH, dan total asam dari susu sebagai *carrier beads*. Data dianalisis dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada $\alpha = 5\%$ dan dilanjutkan dengan uji Beda Jarak Nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada $\alpha = 5\%$ untuk menentukan taraf perlakuan yang memberikan perbedaan nyata. Konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan memberikan pengaruh interaksi nyata terhadap jumlah sel terlepas dan total asam, serta pengaruh nyata masing-

masing faktor terhadap pH *carrier*. Penggunaan konsentrasi tepung pepaya 6% dan semakin lama penyimpanan meningkatkan jumlah sel terlepas dan total asam. Peningkatan total asam signifikan dihasilkan pada lama penyimpanan 14 hingga 28 hari yang dikombinasikan dengan berbagai konsentrasi tepung pepaya. Semakin tinggi konsentrasi tepung pepaya atau semakin lama disimpan, maka nilai pH semakin rendah.

Kata kunci: *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil, tepung pepaya, lama penyimpanan

PENDAHULUAN

Pangan fungsional merupakan produk yang diklaim memiliki manfaat kesehatan disamping mencukupi kebutuhan gizi. Salah satunya produk sinbiotik yang mengandung probiotik dan prebiotik saling bersinergi (Verma *et al.*, 2012). *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 berpotensi sebagai probiotik karena ketahanannya dalam asam dan mampu memfermentasi komponen prebiotik (Lee and Salminen, 2009). Sumber komponen prebiotik berasal dari tepung pepaya yang mengandung serat pangan dan gula alkohol berupa manitol (Widyastuti dkk., 2003).

Produk sinbiotik umumnya menggunakan susu sebagai *carrier*. Adanya penyimpanan dan proses pencernaan tubuh menyebabkan penurunan jumlah probiotik. Oleh karena itu dilakukan teknik imobilisasi (Sultana *et al.*, 2000). Imobilisasi *L. acidophilus* FNCC 0051 menggunakan Na-alginat sebagai bahan pengkapsul yang dikombinasikan dengan tepung pepaya. *Beads* alginat-tepung pepaya berisi sel probiotik dimasukkan dalam susu UHT sebagai *carrier* dan disimpan dengan lama penyimpanan 0, 7, 14, 21, dan 28 hari pada suhu $5\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Selama penyimpanan diamati total sel terlepas, pH, dan total asam *carrier*. Penambahan tepung pepaya dapat mengisi rongga dalam *beads* sehingga menekan pelepasan sel dan perubahan *carrier* selama penyimpanan. Perubahan *carrier* disebabkan oleh metabolit yang dihasilkan oleh sel yang terlepas maupun terjerat dalam matriks *gel*. Namun perubahan diharapkan tidak berdampak begitu besar

karena adanya penyimpanan suhu rendah dapat menghambat aktivitas bakteri.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah susu UHT *Full Cream* komersial, kultur bakteri *L. acidophilus* FNCC 0051 diperoleh dari Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, buah pepaya mengkal varietas *Thailand* dari Malang, NaCl p.a, Na-Alginat murni, dan CaCl_2 teknis.

Pembuatan Tepung Pepaya

Proses pembuatan diawali dengan mengocok putih sampai sedikit berbusa, kemudian dekstrin sebanyak 1% (b/b) dari berat putih telur dimasukkan dan dikocok hingga terbentuk busa stabil. Daging pepaya dihancurkan menjadi *slurry*. *Slurry* pepaya dicampur dengan busa sebanyak 10% (b/b) dari berat *slurry*, kemudian dihamparkan dan dikeringkan dengan suhu 60°C selama 5 jam. Setelah kering dilakukan penghalusan dengan blender dan pengayakan. Selanjutnya disimpan dalam *freezer* (Gunawan, 2008).

Pasteurisasi Tepung Pepaya

Tepung pepaya yang hendak digunakan harus dipasteurisasi dengan memasukkan tepung pepaya ke dalam erlenmeyer bersumbat kemudian dipanaskan dengan *waterbath* pada suhu 95°C selama 30 menit.

Pembuatan Sel Imobil

Larutan Na-alginat 1,5% (b/v) steril dicampur dengan tepung pepaya 3% atau

6% (b/v) secara aseptis sambil dihomogenkan dengan *vortex* selama 2 menit. Selanjutnya campuran dipanaskan dengan *shaker waterbath* suhu 80°C selama 15 menit. Setelah tepung pepaya dan larutan Na-alginat tercampur rata, larutan tersebut didinginkan hingga suhu ruang (30°C±1°C). Kemudian dicampur dengan kultur *starter* pekat *L. acidophilus* FNCC 0051 sebanyak 1% (v/v). Selanjutnya dihomogenkan dengan *vortex* selama 2 menit agar tercampur merata. Campuran tersebut dimasukkan dalam *syringe* (diameter 3-4 mm) dan diteteskan dalam larutan CaCl₂ 1% dingin 4-5°C. *Beads* yang terbentuk didiamkan dalam *refrigerator* (4-5°C) selama 15 menit. Setelah itu, *beads* dicuci dengan larutan garam NaCl 0,85% sebanyak 3 kali.

Penyiapan Produk Sinbiotik dan Persiapan Pengujian

Beads sinbiotik sebanyak 30% (b/v) ditimbang secara aseptis dan dimasukkan dalam susu UHT. Selanjutnya dilakukan penyimpanan selama 0, 7, 14, 21, dan 28 hari dalam *refrigerator* suhu 4-5°C. Susu yang mengandung *beads* sinbiotik disaring secara aseptis untuk memisahkan *beads* dari susu. Susu yang sudah dipisahkan mengandung sel yang terlepas dari dalam *beads*.

Pengujian Total Sel Terlepas pada Susu UHT dengan Metode Angka Lempeng Total (ALT)

Sampel susu dipipet aseptis dan dilakukan pengenceran dalam pepton water 0,1% dengan tingkat pengenceran 10⁰ sampai 10⁻⁵. Tiap tingkat pengenceran ditumbuhkan dalam cawan petri yang selanjutnya dituang dengan media MRS agar yang telah dicairkan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan dengan mencelupkan sampel susu pada pH meter terkalibrasi (Apriyantono dkk., 1989).

Pengukuran Total Asam

Sampel susu 10 ml diencerkan dengan 100 ml akuades, kemudian dipipet 100 ml ke dalam erlenmeyer dan ditambah 2 tetes indikator PP 1% untuk dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N terstandarisasi. Total asam dinyatakan sebagai % asam dominan dalam bahan yaitu asam laktat (BM=90 g/mol). Rumus menghitung total asam laktat adalah sebagai berikut:

$$\text{Total Asam Laktat (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times \text{BM}_{\text{FP}} \times 100\%}{V_{\text{bahan}} \times 1000}$$

Analisis Statistik

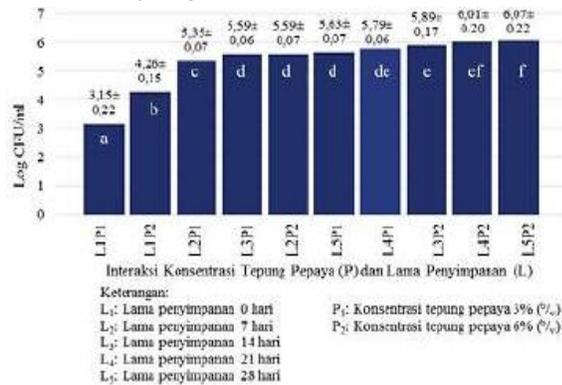
Rancangan penelitian yang digunakan adalah Faktorial dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari dua faktor yaitu konsentrasi tepung pepaya yang terdiri dari 2 (dua) level, yaitu 3% (b/v) dan 6% (b/v), serta lama penyimpanan yang terdiri dari (5) level, yaitu 0, 7, 14, 21, dan 28 hari. Masing-masing kombinasi perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Variabel yang diuji adalah jumlah sel yang terlepas dari dalam *beads*, pH, dan total asam dari susu sebagai *carrier beads*. Data dianalisis dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada $\alpha = 5\%$ dan dilanjutkan dengan uji Beda Jarak Nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada $\alpha = 5\%$ untuk menentukan taraf perlakuan yang memberikan perbedaan nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama penyimpanan diharapkan tidak terjadi pelepasan sel yang nbesar. Pengaruh interaksi konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan terhadap jumlah sel terlepas terdapat pada Gambar 1.

Perlakuan L₁P₁, L₂P₁, dan L₁P₂ memiliki perbedaan jumlah sel terlepas yang signifikan. Pada penyimpanan awal dengan konsentrasi tepung pepaya yang berbeda sudah terjadi pelepasan sel. Pelepasan sel pada L₁P₂ lebih tinggi daripada L₁P₁. Sel yang terlepas terus bertumbuh secara bebas pada *carrier* dan

jumlahnya meningkat secara signifikan dengan bertambahnya lama penyimpanan (L_2P_1). Pada kondisi tersebut metabolit masih tidak banyak dihasilkan sehingga sel tidak mengalami kematian akibat akumulasi metabolit yang bersifat toksik.

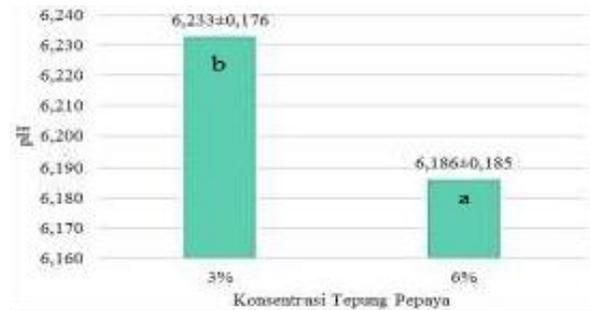


Gambar 1. Pengaruh Interaksi Perbedaan Konsentrasi Na-alginat dengan Lama Penyimpanan terhadap jumlah ALT sel bebas (log cfu/ml)

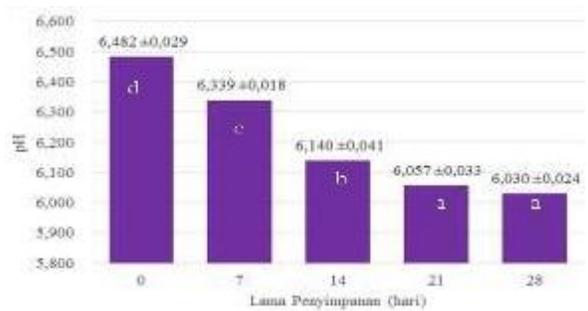
Perlakuan L_3P_1 , L_4P_1 , L_5P_1 memiliki jumlah sel terlepas yang tidak berbeda signifikan dengan L_2P_2 . Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi tepung pepaya yang lebih rendah namun semakin lama penyimpanan menghasilkan jumlah sel terlepas yang tidak berbeda nyata dengan penggunaan tepung pepaya konsentrasi tinggi (6%) dan lama penyimpanan yang relatif singkat, yaitu 7 hari (L_2P_2). Beads dengan tepung pepaya 6% memiliki kandungan serat tidak larut yang lebih besar sehingga terdapat banyak rongga (Widyastuti dkk., 2006). Banyaknya rongga menyebabkan peningkatan laju difusi selama penyimpanan yang singkat, akibatnya pertumbuhan sel terimobil semakin pesat, mendesak *beads*, dan terlepas menuju *carrier* (Ari dkk., 2010; Krasaekoopt et al., 2003). Pada L_4P_1 , L_3P_2 , dan L_4P_2 menunjukkan bahwa penggunaan tepung pepaya pada konsentrasi lebih rendah menghasilkan pelepasan sel yang tidak berbeda nyata dengan penggunaan konsentrasi tepung pepaya yang lebih tinggi jika perlakuan tersebut dikombinasikan dengan lama penyimpanan yang relatif panjang. Perlakuan L_4P_2 dan L_5P_2 menunjukkan tidak ada peningkatan jumlah

sel terlepas. Semakin banyak konsentrasi tepung pepaya dan semakin lama disimpan, terdapat akumulasi asam laktat yang menyebabkan kematian sel sehingga tidak terjadi peningkatan jumlah sel terlepas pada penyimpanan akhir.

Akumulasi asam laktat selama penyimpanan menyebabkan perubahan *carrier* yang diukur dengan parameter pH dan total asam. Pengaruh konsentrasi tepung pepaya serta lama penyimpanan terhadap pH *carrier* dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi Tepung Pepaya terhadap pH Carrier



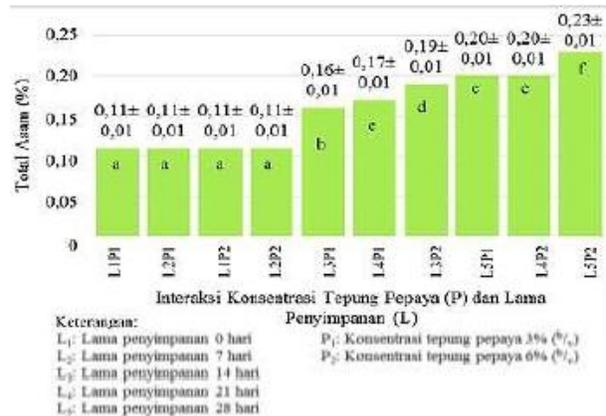
Gambar 3. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap pH Carrier

Rerata pH perlakuan dengan konsentrasi tepung pepaya 6% lebih rendah dibandingkan konsentrasi tepung pepaya 3% dan terdapat perbedaan signifikan. Semakin banyak tepung pepaya yang ditambahkan maka semakin banyak jumlah serat tidak larut yang berakibat pada banyaknya rongga dalam *beads*. Rongga tersebut meningkatkan laju difusi nutrisi dan cairan dari *carrier*. Nilai pH memiliki perbedaan signifikan pada penyimpanan hari ke 0 hingga ke-14, namun tidak terdapat perbedaan pada penyimpanan hari ke-21 dan 28. Semakin lama disimpan,

maka penurunan pH semakin besar. Penurunan pH tetap terjadi walau produk disimpan dalam suhu rendah karena aktivitas metabolisme tetap berjalan walaupun lambat. Metabolisme tersebut dilakukan oleh sel terimobil dan sel yang terlepas pada *carrier* (Gautier *et al.*, 2011). Akumulasi asam laktat dalam *beads* menekan pertumbuhan sel terimobil. Asam laktat dalam kondisi tidak terdisosiasi masuk melalui membran sel dan terdisosiasi di dalam sitoplasma. Ion H⁺ yang menumpuk menyebabkan penurunan gradien proton. Sel bakteri mengalami kematian karena ATP yang digunakan dalam pompa proton habis untuk mengeluarkan kelebihan H⁺ (Priyanto, 1988 dalam Haryono, dkk., 2015). Selain itu rendahnya pH sel berakibat pada denaturasi protein dan inaktivasi enzim sehingga metabolisme terganggu. Ray and Bhunia (2008) menyatakan bahwa asam laktat terdisosiasi sebanyak 99,3% pada pH 6. Rerata nilai pH susu yang terukur pada penyimpanan 21 dan 28 hari berkisar 6,027-6,050. Nilai pH tersebut optimum bagi molekul asam laktat untuk terdisosiasi.

Total asam mengukur asam dominan dalam produk yaitu asam laktat. Namun selama penyimpanan dimungkinkan dihasilkan asam-asam lain dalam jumlah kecil seperti asam asetat. Pengaruh interaksi konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan terhadap total asam terdapat pada Gambar 4.

Total asam untuk perlakuan L₁P₁, L₂P₁, L₁P₂, dan L₂P₂ tidak berbeda signifikan. Pada kondisi awal keasaman *carrier* masih rendah dan menunjukkan bahwa asam laktat belum banyak dihasilkan. Peningkatan total asam secara signifikan berturut-turut terdapat pada perlakuan L₃P₁, L₄P₁, dan L₃P₂.



Gambar 3. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Tepung Pepaya dan Lama Penyimpanan terhadap Total Asam

Karakteristik *beads* yang dipengaruhi oleh konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan dapat meningkatkan total asam *carrier*. Konsentrasi tepung pepaya 3% dan umur simpan yang singkat menghasilkan total asam yang rendah. *Beads* dengan konsentrasi tepung pepaya 3% memiliki rongga yang relatif sedikit bila dibandingkan dengan tepung pepaya 6%. Rongga pada *beads* berpengaruh pada laju difusi. Laju difusi yang relatif lebih rendah selama penyimpanan menyebabkan *beads* tahan terhadap perubahan fisik sehingga pelepasan sel relatif lebih rendah, akibatnya jumlah asam laktat yang dihasilkan relatif sedikit. Perlakuan L₅P₁ dan L₄P₂ memiliki total asam yang tidak berbeda signifikan, hal tersebut menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi tepung pepaya yang lebih rendah dan lama penyimpanan yang panjang menghasilkan total asam yang tidak berbeda nyata dengan penggunaan tepung pepaya 6% dan lama penyimpanan yang lebih singkat. Perlakuan L₅P₂ memiliki total asam paling tinggi. Konsentrasi tepung pepaya yang digunakan dan masa penyimpanan yang panjang menyebabkan pertumbuhan sel terimobil yang pesat. Sel yang bertumbuh mendesak *beads* terlepas menuju *carrier*, akibatnya sel yang terlepas tersebut memanfaatkan nutrisi secara bebas pada *carrier*. Kondisi tersebut terus terjadi dari penyimpanan awal hingga akhir, sehingga pada akhir

penyimpanan perlakuan dengan tepung pepaya 6% menghasilkan total asam tertinggi karena adanya akumulasi asam laktat.

KESIMPULAN

Konsentrasi tepung pepaya berinteraksi dengan lama penyimpanan dalam mempengaruhi jumlah sel terlepas. Konsentrasi tepung pepaya yang semakin besar dengan lama penyimpanan yang semakin lama menyebabkan pelepasan sel yang tinggi. Semakin rendah konsentrasi tepung pepaya yang digunakan mengakibatkan penurunan nilai pH yang rendah dan semakin lama penyimpanan menyebabkan nilai pH semakin rendah. Interaksi konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan menghasilkan peningkatan total asam yang signifikan pada lama penyimpanan 14 hingga 28 hari dengan konsentrasi tepung pepaya yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini sebagai bagian dari Hibah Bersaing yang berjudul "Penggunaan Tepung Pepaya dan Bakteri Probiotik Terimobilisasi dalam Pembuatan Produk Sinbiotik: Optimasi Formulasi, Stabilitas dalam Sistem Pangan dan Manfaatnya terhadap Kesehatan Usus".

DAFTAR PUSTAKA

AOAC. 1996. Acidity of Milk. AOAC Chapter 33 p.7. Maryland: Gaithersburg.
Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati, dan Budiyanto. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan. Bogor: PAU Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
Ari, A. 2010. Encapsulation of *Lactobacillus casei* Using Extrusion Technique As

Starter Culture For Production of Dadih from Cow Milk. Skripsi. Fakultas Teknologi Hasil Pertanian IPB, Bogor.

- Gautier, A., B. Carpentier, M. Dufresne, Q.V. Dinh, P. Paullier, and C. Legallais. 2011. Impact of Alginate Type and Bead Diameter on Mass Transfers and the Metabolic Activities of Encapsulated C3A Cells in Bioartificial Liver Applications, *European Cells and Materials*.21:94-106.
- Gunawan, M.M. 2008. Pengeringan Pepaya (*Carica papaya L.*) dengan Foam Mat Drying; Kajian Konsentrasi Putih Telur pada Dua Tingkat Kematangan Pepaya. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Haryono, L. 2014. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Isomalt dan Lama Penyimpanan terhadap Viabilitas Sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 Terimobil. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Unika Widya Mandala Surabaya.
- Krasaekoopt W., B. Bhandari, and H. Deeth. 2003. Evaluation of Encapsulation Techniques of Probiotics for Yoghurt. *Int. Dairy J.* 13: 3-13.
- Lee, Y.K. and Salminen, S. 2009. Handbook of Probiotics and Prebiotics. Second Edition. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.
- Ray, B. and Bhunia, K. 2008. Fundamental Food Microbiology 4th Edition. Boca Raton: CRC Press.
- Verma, S.K., J. David, and R. Chandra. 2012. Synbiotics: Potential Dietary Supplements in Functional Foods. *Indian Dairyman*.
- Widyastuti, T.E.W., A.I. Widjajaseputra, dan I. Srianta. 2006. Studi Potensi Beberapa Varietas dan Tingkat Kematangan Pepaya (*Carica papaya*) sebagai Minuman Fungsional untuk Mengatasi Konstipasi. Laporan Tahun I Penelitian Hibah Bersaing XIV. Surabaya: Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Widyastuti, T.E.W., Y. Marsono, dan
Zuheid N. 2003. Karakterisasi
Tepung Pepaya sebagai Bahan
Laksatip: Respon Intestinal Tikus
Sprague Dawley. Seminar

Nasional dan Pertemuan Tahunan
Perhimpunan Ahli Teknologi
Pangan Indonesia (PATPI).
Yogyakarta: (GM:14).