

PENGARUH LAMA PENYIMPANAN SELAMA DISTRIBUSI DAN PEMASARAN TERHADAP VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT DAN TINGKAT KEASAMAN PADA YOGURT MURBEI HITAM (*Morus nigra* L.)

(Effect of storage time during distribution and marketing on the viability of lactic acid bacteria and acidity levels in black mulberry yogurt (*Morus nigra* L.))

Hana Meliana Oktavia^{a*}, Netty Kusumawati^a, Indah Kuswardani^a

^aFakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Indonesia

* Penulis korespondensi
Email: hanaoktavia93@yahoo.com

ABSTRACT

Yoghurt is the product from coagulation of milk that is produced from fermentation process of lactic acid bacteria (LAB), *Lactobacillus bulgaricus* (LB) and *Streptococcus thermophilus* (ST). Usually during storage and distribution, the viability of LB and ST decrease. Marketing and distribution method which is done by small scale industry is using combination storage on coolbox with $\pm 15^{\circ}\text{C}$ - 20°C during 10 hours and followed by storage on refrigerator with 5°C during 14 hours. The purpose of the research observe the effect of storage time on such condition. The research purposed to observe the effect of storage time during distribution and marketing on the viability of Lactic Acid Bacteria (ST and LB) and acidity levels in black mulberry yogurt. The research based on RBD (Randomized Block Design) single factor: the long of storage during distribution and marketing (1; 5; 9; 13; 17 and 21 days) with 4 replications. The parameters observed were pH, total acid and viability LAB (ST and LB). The data obtained were analyzed statistically with Analysis of Variance (ANOVA) and Duncan Multiple Range Test (DMRT) ($\alpha = 0.05$). The long of storage during distribution and marketing gave significant affect on the viability of lactic acid bacteria and the acidity of the black mulberry yogurt. The longer of storage time, the lower LAB viability and pH, but higher total acid. The value of black mulberry yoghurt ALT LAB after 21 days of storage 9.1484 log cfu / ml with a pH value of yogurt 3.814, acidity Soxhlet Henkel 95.03 °SH and total of lactic 2.14%. Black mulberry yogurt during 13 days of storage and distribution is qualified to SNI with 9.5148 ALT log cfu/mL and a total of lactic acid 1.97%.

Keywords: yoghurt, black mulberry, acidity level, viability lactic acid bacteria

ABSTRAK

Yogurt merupakan produk koagulasi susu yang dihasilkan melalui proses fermentasi bakteri asam laktat (BAL) *Lactobacillus bulgaricus* (LB) dan *Streptococcus thermophilus* (ST). Seringkali selama distribusi yogurt, viabilitas ST dan LB menurun. Pemasaran dan distribusi yogurt yang banyak dilakukan oleh masyarakat skala industri kecil pada umumnya adalah dengan mengkombinasi penyimpanan pada coolbox bersuhu $\pm 15^{\circ}\text{C}$ - 20°C selama 10 jam dan dilanjutkan dengan penyimpanan pada refrigerator bersuhu 5°C selama 14 jam. Tujuan penelitian untuk mengetahui viabilitas bakteri asam laktat dan tingkat keasaman yogurt murbei hitam selama penyimpanan dan distribusi yogurt murbei hitam. Rancangan penelitian yang digunakan adalah RAK (Rancangan Acak Kelompok) faktor tunggal dengan yaitu lama penyimpanan selama distribusi dan pemasaran (1, 5, 9, 13, 17 dan 21 hari) dan 4 kali pengulangan. Parameter yang diuji meliputi pH, total asam dan total BAL. Data yang diperoleh dianalisa statistik dengan Analysis of Varians (ANOVA) dan Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada $\alpha = 5\%$. Lama

penyimpanan selama distribusi dan pemasaran berpengaruh nyata terhadap viabilitas bakteri asam laktat dan tingkat keasaman pada yogurt murbei hitam. Lama waktu penyimpanan, viabilitas BAL dan pH yogurt semakin menurun, dan total asam laktat yogurt murbei hitam semakin meningkat. Jumlah nilai kisaran total BAL yogurt murbei hitam setelah penyimpanan 21 hari berkisar antara log 9,1484 cfu/ml dengan nilai pH yogurt kisaran antara 3,814, tingkat keasaman Soxhlet Henkel 95,03 °SH dan total asam laktat 2,14%. Yogurt murbei hitam selama penyimpanan dan distribusi dapat memenuhi syarat SNI sampai 13 hari penyimpanan dengan total BAL log 9,5148 cfu/ ml dan total asam laktat 1,97%.

Kata kunci: yogurt, murbei hitam, tingkat keasaman, viabilitas bakteri asam laktat

PENDAHULUAN

Kesadaran masyarakat akan pentingnya kesehatan, menjadikan yogurt sebagai makanan fungsional yang mulai banyak diminati. Yogurt merupakan produk koagulasi susu yang dihasilkan melalui proses fermentasi bakteri asam laktat (BAL), *Lactobacillus bulgaricus* (LB) dan *Streptococcus thermophilus* (ST) yang akan menghasilkan produk akhir dengan tekstur kental, bau yang khas dan memiliki rasa yang asam. Penambahan buah atau sari buah pada yogurt sudah umum dilakukan dan masyarakat sudah dapat menerima jika yogurt tidak berwarna putih. Murbei merupakan salah satu jenis buah yang berpotensi sebagai bahan tambahan pangan yang dapat berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

Pemasaran yogurt di tengah masyarakat umumnya dilakukan dengan menyimpan produk di dalam lemari pendingin bersuhu 5°C. Menurut Jawetz (1980), bahwa penyimpanan pada suhu rendah merupakan salah satu cara pengendalian dari pembiakan mikroorganisme. Dalam pemasarannya industri rumah tangga mempunyai cara yang berbeda dimana produk yogurt dipasarkan secara keliling dengan menggunakan *coolbox* (suhu 15-20°C). Hal itu menyebabkan terjadinya fluktuasi suhu yang berpengaruh terhadap viabilitas bakteri asam laktat (BAL) pada yogurt sedangkan menurut SNI 01-2981-2009 yogurt harus mengandung bakteri probiotik minimal 10⁷ koloni/g. Oleh karena itu perlu dilakukan

penelitian terhadap viabilitas bakteri asam laktat dan tingkat keasaman yogurt murbei hitam selama penyimpanan dan distribusi yogurt yang didekati dengan fluktuasi suhu selama penyimpanan yogurt dalam lemari pendingin (suhu 5°C) selama 14 jam kemudian dilanjutkan penyimpanan di dalam *coolbox* (suhu 15°C-20°C) selama 10 jam setiap harinya. Viabilitas bakteri asam laktat (ST dan LB) dan tingkat keasaman yogurt murbei hitam akan diuji pada hari ke 1, 5, 9, 13, 17, dan 21.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar dari "UD MULIA", buah murbei hitam (*Morus nigra* L.) dari Pacet, Mojokerto, susu skim bubuk "Solarec" dari PT. Hakiki Donarta, susu UHT *full cream* "Ultramilk", gula pasir "Gulasir" dari minimarket "Alfamart", akuades dari "Surabaya Aqua Industry", kultur stok *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040, *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041, *Lactobacillus* MRS Broth "Himedia M369-500G", Agar "Bacto Agar 214010", *Sabouraud 4% Dextrose Agar* "Merck 1.05438.0500" dari Laboratorium Mikrobiologi Industri Pangan UKWMS.

Pembuatan Yogurt Murbei Hitam

Buah murbei hitam disortasi, dicuci dan dibekukan pada suhu -20°C untuk digunakan selama penelitian. Sebelum digunakan buah dilakukan *thawing*,

kemudian *blanching* uap pada suhu 80°C 1 menit. Buah dihancurkan dengan blender, disaring dan dilakukan pasteurisasi pada suhu 72°C 15 menit sehingga diperoleh sari buah yang siap digunakan.

Susu sapi segar ditambah dengan susu skim 2% dan gula pasir 5%, kemudian dihomogenisasi pada kecepatan 8000-13500 rpm selama 5 menit. Susu dipanaskan hingga suhu 90°C dan dipertahankan selama 5 menit kemudian saat suhu menurun menjadi $\pm 42^\circ\text{C}$, susu ditambahkan sari buah sesuai dengan perlakuan, setelah itu ditambahkan starter yang sebelumnya telah ditumbuhkan pada media susu UHT secara terpisah yaitu ST 5% dan LB 5%. Pengemasan pada cup steril dan dilakukan inkubasi selama 4 jam pada suhu 42°C. Penyimpanan yogurt dilakukan pada refrigerator pada suhu 5°C selama 14 jam dilanjutkan di dalam *coolbox* (suhu 15°C-20°C) selama 10 jam setiap harinya.

Angka Lempeng Total

Penghitungan mengacu pada Fardiaz (1989). Sampel 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 4,5 mL pepton *from meat* 0,1% dan dihomogenkan, dilanjutkan pemipetan 0,5 mL dari tabung tersebut lalu dimasukkan ke tabung reaksi berikutnya. Langkah ini diulangi sampai pengenceran 10^{-10} . Pada pengenceran 10^{-7} - 10^{-10} , dilakukan pemipetan 1,0 mL dari tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri steril (uji duplo) kemudian media MRS Agar (Bacto Agar) T= 50°C dituang ke dalam masing-masing cawan, homogenkan, biarkan memadat. Inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Pengukuran pH

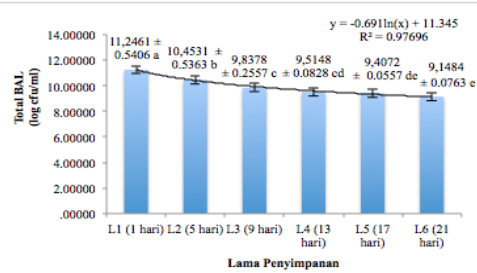
pH diukur dengan menggunakan pH meter menurut Apriyantono dkk. (1989). Elektroda dicelupkan dalam sampel yogurt dan dilakukan pembacaan hingga diperoleh angka yang konstan.

Tingkat keasaman Soxhlet Henkel

Pengukuran Tingkat Keasaman diukur berdasarkan SNI 01-2782-1998. Sampel yogurt sebanyak 1 mL dipipet dan ditambah 100mL akuades, 3 tetes indikator pp 2%, dititrasi dengan NaOH 0,25N hingga larutan berwarna merah muda. Tingkat keasaman dinyatakan dengan °SH.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyimpanan yogurt murbei hitam selama distribusi dan pemasaran yang didekati dengan fluktuasi suhu dalam lemari pendingin (suhu 5°C) selama 14 jam kemudian dilanjutkan penyimpanan di dalam *coolbox* (suhu 15°C-20°C) selama 10 jam setiap harinya menyebabkan terjadi penurunan hingga hari ke-21 pada nilai ALT bakteri asam laktat yogurt murbei hitam. Nilai ALT BAL yogurt pada semua perlakuan berkisar antara log 9,1484-11,2461 cfu/ml sehingga yogurt yang dihasilkan masih memenuhi standar jumlah sel hidup BAL yaitu 10^7 cfu/mL (Badan Standarisasi Nasional, 2009). Gambar 1 menunjukkan terjadi penurunan ALT selama penyimpanan. Penyimpanan yogurt pada suhu rendah dalam *refrigerator* (5°C) merupakan salah satu cara pengendalian dari aktivitas mikroorganisme dimana metabolisme akan berlangsung lambat. Oleh karena itu, suhu di bawah 10°C dianggap menguntungkan bagi kelangsungan hidup BAL. Namun penyimpanan yogurt dalam *coolbox* (15-20°C) akan menyebabkan metabolisme berlangsung sangat cepat sehingga mengakibatkan BAL yang telah mengalami fase lag dan fase eksponensial, dan sering mencapai fase stasioner setelah fermentasi akan mencapai fase kematian selama penyimpanan. Selain itu, metabolisme yang berlangsung sangat cepat akan menyebabkan metabolit berupa asam laktat dan hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh *Lactobacillus bulgaricus* menjadi efek antagonis bagi BAL.



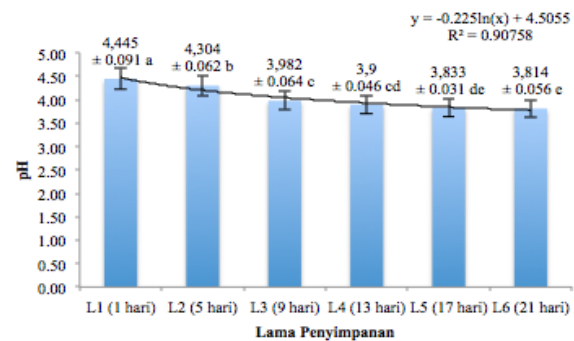
Gambar 1. Pengaruh Lama Penyimpanan Selama Distribusi dan Pemasaran Terhadap Angka Lempeng Total Bakteri Asam Laktat Yogurt Murbei Hitam

Asam laktat yang dihasilkan akan terus meningkat menyebabkan penurunan pH. Rendahnya pH media merupakan faktor penting yang dapat menghambat kelangsungan hidup bakteri asam laktat (Shah & Jellen, 1990). Mekanisme kematian sel karena akumulasi asam organik adalah masuknya asam lemah (HA) ke dalam sitoplasma BAL yang pada akhirnya akan terurai menjadi ion H⁺ dan A⁻ di dalam sel. Penumpukan ion H⁺ di dalam sel akan menyebabkan ketidakseimbangan elektrolit pada sel bakteri sehingga bakteri akan berusaha mengeluarkan H⁺ yang mengakibatkan bakteri mengeluarkan ATP dalam jumlah besar dan menyebabkan kematian sel (Sardjono dan Wibowo, 1988; Jay, 2000).

Selama penyimpanan kandungan oksigen di dalam produk meningkat, mengingat bahan kemasan yang umum digunakan (Ishibashi dan Shimamura, 1993). *Lactobacillus bulgaricus* (LB) dan *Streptococcus thermophiles* (ST) merupakan bakteri mikroaerofilik, dimana dapat hidup dengan adanya oksigen namun tidak dengan jumlah yang banyak. Oksigen berlebih akan diubah menjadi hidrogen peroksida melalui reaksi oksidasi-reduksi oleh enzim piridin nukleotida oksidase, piruvat oksidase dan α-glycerophosphate oksidase (Codon, 1987). hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh *Lactobacillus bulgaricus* akan berdampak antagonis bagi organisme lain dalam yogurt. Hidrogen peroksida ditransfer ke dalam sel probiotik merangsang terjadinya reaksi oksidatif yang mengakibatkan akumulasi

hidrogen peroksida sebagai metabolit beracun. BAL dalam yogurt tidak memiliki enzim katalase untuk mereduksi hidrogen peroksida sehingga merugikan kelangsungan hidup probiotik.

Penyimpanan yogurt murbei hitam selama distribusi dan pemasaran menyebabkan pH yogurt cenderung menurun. Nilai pH yogurt murbei hitam yang dihasilkan pada semua perlakuan berkisar antara 3,814 - 4,445. Gambar 2 menunjukkan penurunan pH yogurt murbei hitam yang terjadi.



Gambar 2. Pengaruh Lama Penyimpanan Selama Distribusi dan Pemasaran Terhadap pH Yogurt Murbei Hitam

Penyimpanan yogurt dalam *coolbox* (15-20°C) akan menyebabkan metabolisme berlangsung sangat cepat sehingga metabolit berupa asam laktat yang dihasilkan akan terus meningkat dan akan menyebabkan pH yogurt murbei menurun dengan cepat. Pada akhir umur simpan terjadi penurunan pH sebesar 0,2-0,3 ketika suhu lebih tinggi, mis > 10 ° C (Medina dan Jordano, 1995; Varga 2006, Damin et al. 2008). pH merupakan faktor penting yang mempengaruhi kelangsungan hidup BAL, dan suhu sangat besar pengaruhnya. Penurunan pH yogurt seiring dengan peningkatan total asam dari yogurt murbei hitam. Semakin tinggi kadar total asam dari yogurt murbei hitam maka pH akan semakin rendah.

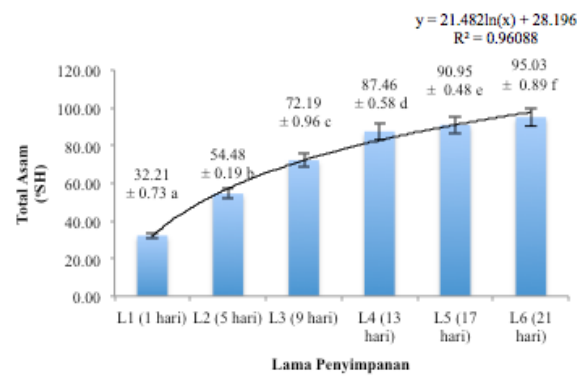
Gambar 2. menunjukkan semakin lama penyimpanan yogurt, maka nilai pH-nya semakin rendah, tetapi penurunan nilai pH untuk setiap lama penyimpanan berbeda-beda. Semakin lama waktu penyimpanan distribusi dan pemasaran

maka penurunan pH yang terjadi adalah semakin sedikit ($L_3 - L_6$) tidak meningkat sebanyak diawal-awal masa penyimpanan ($L_1 - L_3$). Hal ini disebabkan karena selama penyimpanan, viabilitas BAL akan menurun sehingga akan mengurangi kemampuan metabolisme oleh BAL dalam memecah laktosa menjadi asam laktat. Aktifitas BAL akan mempengaruhi tingkat keasaman yogurt karena produk metabolit yang digunakan berupa asam laktat. BAL dapat tumbuh secara optimum pada keadaan pH lingkungan 4,0-5,0 (Seveline, 2005) dan mengalami penurunan yang signifikan pada $pH < 4$ (Kim, dkk., 2008). Dimana pada penyimpanan L_3-L_6 , pH yogurt yang merupakan media BAL mencapai < 4 akibat akumulasi asam sehingga yogurt tidak menjadi media yang ideal untuk BAL tetap hidup dan akan mempengaruhi aktivitas BAL dalam memecah laktosa yang dapat menurunkan pH dalam yogurt murbei hitam.

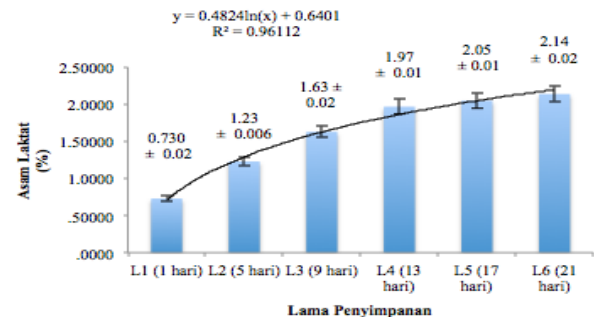
Penyimpanan yogurt murbei hitam selama distribusi dan pemasaran menyebabkan tingkat keasaman yogurt cenderung meningkat. Nilai tingkat keasaman yogurt murbei hitam yang dihasilkan pada semua perlakuan berkisar antara 32,21 – 95,03 °SH, jika dikonversikan menjadi asam laktat diperoleh kisaran 0,73-2,14%. Yogurt dengan lama penyimpanan (L_5-L_6) sudah tidak memenuhi standar keasaman yogurt karena diatas 2,0% sedangkan batas total asam sebagai asam laktat berdasarkan SNI No 01-2981-2009 yaitu 0,5-2,0%. Gambar 3A dan 3B menunjukkan jumlah total asam laktat semakin meningkat.

Metabolisme yang dilakukan BAL akan terjadi sangat cepat saat penyimpanan dalam *coolbox* dimana suhu akan meningkat berkisar 15-20°C. Enzim laktase akan dengan cepat menghasilkan asam laktat sebagai metabolit. Asam laktat yang terbentuk akan disekresikan keluar sel dan terakumulasi dalam media fermentasi yaitu yogurt murbei hitam sehingga makin lama waktu penyimpanan, jumlah total asam yang terakumulasi semakin meningkat dan

menurunkan pH. Peningkatan tertinggi kadar tingkat keasaman yogurt murbei hitam terjadi pada awal penyimpanan (L_1-L_3), dan semakin lama waktu penyimpanan, kadar total asamnya tetap meningkat, namun tidak meningkat sebanyak pada penyimpanan $L_1 - L_3$. Peningkatan kadar total asam ini berkaitan dengan jumlah BAL dalam yogurt murbei hitam. Selama penyimpanan, asam laktat yang dihasilkan akan menurunkan pH media yaitu yogurt sehingga jumlah BAL dalam yogurt murbei hitam semakin menurun akibat dari penurunan BAL tersebut maka aktivitas BAL dalam memecah laktosa menjadi asam laktat juga menurun. Hal itulah yang menyebabkan peningkatan total asam pada penyimpanan $L_3 - L_6$ hanya sedikit.



Gambar 3A. Pengaruh Lama Penyimpanan Selama Distribusi dan Pemasaran Terhadap Tingkat Keasaman Soxhlet Henkel Yogurt Murbei Hitam



Gambar 3B. Pengaruh Lama Penyimpanan Selama Distribusi dan Pemasaran Terhadap Total Asam Laktat Yogurt Murbei Hitam

Peningkatan tertinggi kadar tingkat keasaman yogurt murbei hitam terjadi pada awal penyimpanan (L_{1-3}), dan semakin lama waktu penyimpanan, kadar total asamnya tetap meningkat, namun tidak meningkat sebanyak pada penyimpanan $L_1 - L_3$.

Peningkatan kadar total asam ini berkaitan dengan jumlah BAL dalam yogurt murbei hitam. Selama penyimpanan, asam laktat yang dihasilkan akan menurunkan pH media yaitu yogurt sehingga jumlah BAL dalam yogurt murbei hitam semakin menurun akibat dari penurunan BAL tersebut maka aktivitas BAL dalam memecah laktosa menjadi asam laktat juga menurun. Hal itulah yang menyebabkan peningkatan total asam pada penyimpanan $L_3 - L_6$ hanya sedikit.

KESIMPULAN

Lama penyimpanan selama distribusi dan pemasaran berpengaruh nyata terhadap viabilitas BAL dan tingkat keasaman yogurt murbei hitam. Semakin lama waktu penyimpanan selama distribusi dan pemasaran maka nilai ALT BAL dan pH pada yogurt murbei hitam semakin menurun, sedangkan total asam yogurt murbei hitam akan semakin meningkat. Lama penyimpanan selama distribusi dan pemasaran hingga hari ke 21 menghasilkan total BAL log 9,1484 cfu/ml, pH 3,814, dan total asam 95,03 °SH dengan konversi asam laktat 2,14% pada yogurt murbei hitam. Yogurt murbei hitam selama penyimpanan dan distribusi yogurt, dapat memenuhi syarat SNI sampai 13 hari penyimpanan dengan ALT log 9,5148 cfu/ ml dan total asam laktat 1,97%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Program Penelitian Desentralisasi 2014 yang telah membiayai penelitian ini sebagai bagian dari Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi yang berjudul "Pengaruh Lama Penyimpanan Selama Distribusi dan Pemasaran Terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat dan Tingkat

Keasaman Pada Yogurt Murbei Hitam (*Morus nigra L.*)".

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standardisasi Nasional. 2009. SNI Yoghurt (SNI 2981:2009). Dewan Standardisasi Nasional Jakarta.
- Condon, S. 1987. Responses of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiology Reviews*. 46: 269–281.
- Damin, M.R., E. Minowa., M.R.Alcantara and .N. Oliveira. 2008. Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. *Journal of Texture Studies*. 39 (1): 40-55.
- Ishibashi, N., S. Shimamura. 1993. *Bifidobacteria: Research and development in Japan*. *Food Technology*. 47(6): 129–34.
- Jay, J. M. 2000. *Modern Food Microbiology* 5th ed, New York: Intern Thomson.
- Jawetz, E. 1980. *Review of Medical Microbiology*. 11th Edition. Los Altos: Lange Medical Publication.
- Kim, S. H., C. H. Lim., C. Lee., and G. An. 2008. Optimization of Growth and Storage Condition for Lactic Acid Bacteria in Yogurt and Frozen
- Medina, L.M. dan R. Jordano. (1994). Survival of constitutive microflora in commercially fermented milk containing *Bifidobacteria* during refrigerated storage. *Journal of Food Protection*, 56, 731–733.
- Sardjono dan D. Wibowo, 1988. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. Yogyakarta. Proyek Peningkatan Pengembangan Perguruan Tinggi Universitas Gadjja Mada.
- Seveline. 2005. Pengembangan Produk Probiotik dari Isolat Klinis Bakteri Asam Laktat dengan Menggunakan Teknik Pengerangan Semprot dan Pengerangan Beku, Thesis, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Shah, N., P.Jellen. 1990. Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. *Journal of Food*

Science. 55 (2), 506–509.
Varga M., M.Chafer, A. Albors., A. Chiralt and
Gonzalez-Martinez. 2006.
Physicochemical and sensory

characteristics of yogurt produced from
mixtures of cows' and goats' milk.
International Dairy Journal 18: 1146–
1152.

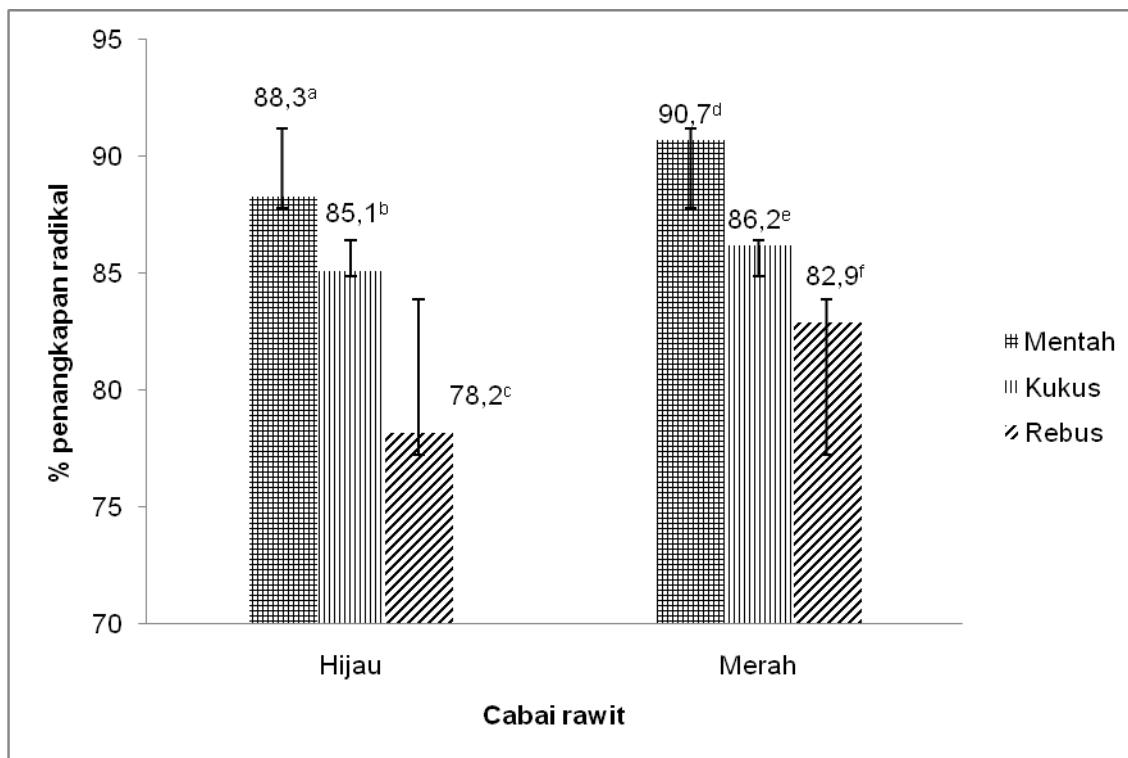
TABEL dan GAMBAR dicantumkan di halaman berbeda (setelah daftar pustaka)

Contoh Tabel:

Tabel 1. Kandungan komponen fenol pada cabairawit

| Sampel | Perlakuan | Kandungan Fenol (mg GAE/100 g bahan) |
|------------------|-----------|---|
| Cabairawit hijau | Mentah | 103 ± 0,23 ^a |
| | Kukus | 87 ± 0,17 ^b |
| | Rebus | 65 ± 0,11 ^c |
| Cabairawit merah | Mentah | 217 ± 0,23 ^d |
| | Kukus | 178 ± 0,21 ^e |
| | Rebus | 149 ± 0,19 ^f |

Data dinyatakan dalam rerata ± SD, huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan



Gambar 1. Kemampuan penangkapan radikal DPPH ekstrak cabai rawit