

PENGARUH KONSENTRASI TEPUNG PEPAYA DAN LAMA PENYIMPANAN TERHADAP KETAHANAN *L. acidophilus* FNCC 0051 TERIMOBIL PADA KONDISI ASAM LAMBUNG DAN GARAM EMPEDU

(Effect of papaya powder concentration and storage time to the survival of immobilized L. acidophilus FNCC 0051 in gastric acid and bile salt condition)

Mariska Sucipto^{a*}, Theresia Endang Widoeri Widyastuti^a, Indah Kuswardhani^a

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

* Penulis korespondensi
Email: marismariskaa@gmail.com

ABSTRACT

Papaya powder added as a prebiotic, but its concentration and storage time in UHT milk as a carrier can impact on viability of immobilized cell in gastric acid and bile salt condition. The purpose of this study was to determine the effect of the interaction of papaya powder concentration and storage time and also the influence of each these factors on the survival of immobilized *L. acidophilus* FNCC 0051 in gastric acid and bile salt. The research design used a Randomized Block Design (RBD) of factorial design. Papaya powder concentrations as the first factor consisting of two levels (3% b/v and 6% b/v) and the storage times as the second factor consisting of five levels (0, 7, 14, 21, and 28 days). Each treatment combinations repeated three times. Data were analyzed by ANOVA (Analysis of Variance) at $\alpha = 5\%$. Based on the results, use of 6% concentration papaya powder significantly increasing the survival of immobilized *L. acidophilus* FNCC 0051 on condition of gastric acid. Meanwhile, interaction of papaya powder concentration and storage time significantly affect the resistance of immobilized *L. acidophilus* FNCC 0051 on bile salt condition. Storage along 14 days decreasing the cells number, but the survival cell on bile salt condition increased by the use of 6% concentration of papaya powder during 21 days of storage. The highest survival with decreased cell 0,1459 log cfu/g obtained from combination of 6% concentration of papaya powder at 21 days of storage time.

Keywords: *sinbiotic, viability, storage time, gastric acid, bile salt condition*

ABSTRAK

Tepung pepaya dapat ditambahkan sebagai prebiotik, namun konsentrasinya dan lama penyimpanan dalam *carrier* susu UHT dapat berpengaruh terhadap ketahanan sel terimobil pada kondisi asam lambung dan garam empedu. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh interaksi konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan serta pengaruh masing-masing faktor terhadap ketahanan *L. acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada kondisi asam lambung dan garam empedu secara *in vitro*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) desain faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu konsentrasi tepung pepaya yang terdiri dari 2 level (3% dan 6% b/v) serta lama penyimpanan yang terdiri dari 5 level (0, 7, 14, 21, dan 28 hari). Masing-masing kombinasi perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Data dianalisis dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada $\alpha = 5\%$ dan apabila berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji Beda Jarak Nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada $\alpha = 5\%$. Penelitian menunjukkan penggunaan konsentrasi tepung pepaya 6% secara nyata mampu meningkatkan ketahanan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada kondisi asam lambung. Sementara, interaksi konsentrasi tepung pepaya dan lama

penyimpanan berpengaruh nyata terhadap ketahanan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada kondisi garam empedu. Selama penyimpanan hingga 14 hari terjadi penurunan jumlah sel, tetapi ketahanan sel pada garam empedu meningkat dengan penggunaan konsentrasi tepung pepaya 6% selama penyimpanan 21 hari. Ketahanan sel tertinggi dengan penurunan sel 0,1459 log cfu/g diperoleh dari kombinasi perlakuan konsentrasi tepung pepaya 6% dan 21 hari penyimpanan.

Kata kunci: sinbiotik, viabilitas, lama penyimpanan, kondisi asam, kondisi garam empedu

PENDAHULUAN

Salah satu produk pangan fungsional yang berkembang saat ini dan baik untuk kesehatan usus adalah produk sinbiotik. Produk sinbiotik merupakan produk yang memiliki kombinasi yang baik antara prebiotik dan probiotik sehingga dapat meningkatkan konsentrasi bakteri baik (probiotik) yang mampu bertahan hidup dalam saluran pencernaan dengan melakukan fermentasi terhadap substrat (Collins dan Gibson, 1999). Salah satu probiotik adalah bakteri asam laktat (BAL) seperti *Lactobacillus acidophilus* (Holzapfel *et al.*, 2001). Prebiotik pada umumnya adalah karbohidrat yang tidak dapat dicerna dan diserap, biasanya dalam bentuk oligosakarida dan serat pangan, salah satu sumber prebiotik yaitu tepung pepaya.

Penambahan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 secara langsung dalam produk pangan dapat terganggu stabilitasnya selama penyimpanan sehingga perlu dikembangkan suatu metode penjeratan bakteri probiotik (imobilisasi sel) agar tetap stabil selama penyimpanan dan dapat tetap bermanfaat sampai pada sistem pencernaan. Penambahan tepung pepaya diharapkan dapat menjaga kestabilan sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil dalam produk sinbiotik. Konsentrasi tepung pepaya yang digunakan selain sebagai sumber prebiotik juga dapat mempengaruhi kekokohan matriks pemerangkap sel, yang akan berpengaruh juga terhadap ketahanan sel pada kondisi saluran pencernaan seperti asam lambung dan garam empedu.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan sel imobil adalah kultur bakteri *L. acidophilus* FNCC 0051 dari PAU UGM, Na-alginat murni (Sigma-Aldrich A2033-100G), larutan CaCl₂ 1% (PT. Brataco ROA 160122), larutan NaCl 0,85% (MERCK 1.06404.1000), oxgall, larutan HCl 37% diperoleh dari Laboratorium Kimia, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, larutan Na-sitrat 0,1 M teknis, buah pepaya mengkal varietas Thailand dari Malang, dan susu UHT "Ultra Milk".

Pembuatan Tepung Pepaya

Pembuatan tepung pepaya diawali dengan mengocok putih telur sampai sedikit berbusa kemudian dekstrin 1% (b/b) dimasukkan dan dikocok hingga terbentuk busa yang stabil. *Slurry* pepaya yang sudah disiapkan dicampur dengan busa dan dilakukan pengocokan dengan kecepatan 1 selama 1 menit. *Slurry* pepaya berbuih hasil pengocokan dilakukan penimbangan 85g/loyang. Setelah itu dihamparkan dan dikeringkan pada suhu 60°C selama 5 jam. Setelah kering dilakukan penghalusan dengan blender dan pengayakan kemudian disimpan dalam *freezer* (Gunawan, 2008).

Pasteurisasi Tepung Pepaya

Tepung pepaya sebelum digunakan dipasteurisasi untuk menghilangkan kontaminan, dengan memasukkan tepung pepaya ke dalam wadah steril kemudian dipanaskan dengan *waterbath* pada suhu 95°C selama 30 menit.

Pembuatan Sel Imobil

Larutan Na-alginat konsentrasi 1,5% (b/v) dicampurkan dengan tepung pepaya 3% (b/v) dan 6% (b/v)). Larutan dihomogenkan kemudian dipanaskan dalam waterbath (80°C, 15 menit, 90 rpm). Setelah 15 menit, larutan Na-alginat- tepung pepaya didinginkan pada suhu 30±1°C, kemudian dicampurkan 1% (v/v) kultur *starter L.acidophilus* FNCC 0051. Larutan tersebut kemudian dihomogenkan menggunakan vortex selama 2 menit dan dilakukan penetesan dalam larutan CaCl₂ dingin. Beads didiamkan dalam larutan CaCl₂ pada suhu 4-5°C selama 15 menit, kemudian dicuci dengan larutan 100 mL NaCl 0,85% sebanyak 3 kali pencucian (Wijaya, 2015).

Pengujian Ketahanan pada Asam Lambung

Tiga gram sel imobil dimasukkan dalam 10 mL media MRS broth yang diatur pH 2,5 (HCl 1M) kemudian diinkubasi 30 menit, 37°C. Beads kemudian disaring menggunakan saringan secara aseptis, dilarutkan ke dalam 27 mL larutan Na-sitrat 0,1 M steril dan dikocok hingga beads larut. Setelah itu, dilakukan seri pengenceran, penuangan MRS agar, diinkubasi selama 37°C, 48 jam dan dilakukan perhitungan koloni yang tumbuh. Rumus ketahanan *L. acidophilus* FNCC 0051 terimobil terhadap asam lambung (log cfu/gram):

Jumlah penurunan sel = log (ALT tabung a) – (ALT tabung b) Tabung a adalah sel imobil tanpa dikontakkan, tabung b adalah sel imobil yang dikontakkan dengan HCl pH 2,5 (Lee and Heo, 2000 dalam Wijaya, 2015).

Pengujian Ketahanan pada Garam Empedu

Tiga gram sel imobil yang telah dikontakkan dengan asam lambung dimasukkan ke 10 mL MRS Broth + oxgall sebanyak 1% (b/v), diinkubasi 37°C, 3 jam, kemudian disaring dengan saringan secara aseptis. Beads kemudian dilarutkan dalam 27 mL larutan Na-sitrat 0,1 M steril dan

dikocok hingga beads larut, kemudian dilakukan seri pengenceran, penuangan MRS agar yang telah dicairkan, dan dilanjutkan dengan inkubasi 37°C, 48 jam. Sebagai kontrol, dilakukan prosedur di atas tetapi dalam media MRS Broth tanpa penambahan oxgall. Ketahanan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil terhadap garam empedu dinyatakan sebagai ketahanan relatif yang diperoleh dengan:

Jumlah penurunan sel pada garam empedu = log (ALT tabung c – ALT tabung b) – log (ALT tabung d-ALT tabung b) Tabung c adalah sel imobil yang dikontakkan dengan oxgall 0%, tabung d adalah sel imobil yang dikontakkan dengan oxgall 1% (Lee and Heo, 2000 dalam Wijaya, 2015).

Analisis Statistik

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) desain faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu konsentrasi tepung pepaya yang terdiri dari 2 level (3% dan 6% b/v) serta lama penyimpanan yang terdiri dari 5 level (0, 7, 14, 21, dan 28 hari). Masing-masing kombinasi perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Data dianalisis dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada $\alpha = 5\%$ dan apabila berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji Beda Jarak Nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) pada $\alpha = 5\%$.

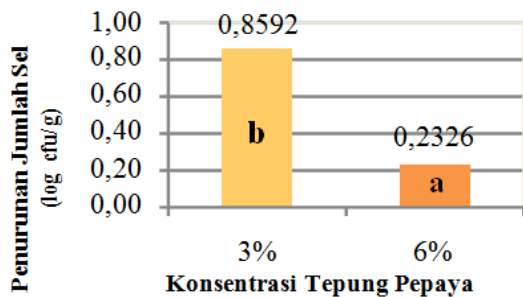
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, jumlah bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dalam *starter* atau sebelum dilakukan proses imobilisasi berkisar antara 11,3802 – 11,6902 log cfu/mL. Setelah didapatkan beads, pengukuran jumlah bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dilakukan terhadap hasil sel kultur yang terjerat dalam beads. Jumlah bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada hari ke 0 dengan berbagai konsentrasi tepung pepaya yang digunakan

berkisar antara 8,6021 – 8,7324 log cfu/gram *beads*.

Ketahanan sel terhadap asam lambung dihitung berdasarkan penurunan log jumlah sel sesudah kontak dengan asam. Sebagai contoh, hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah *L. acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada hari ke 0 dengan berbagai konsentrasi tepung pepaya setelah kontak dengan asam lambung (pH 2,5) selama 30 menit mengalami penurunan hingga jumlah sel hidup dalam matriks Ca alginat-tepung pepaya berkisar antara 8,0000 – 8,3424 log cfu/gram *beads*. Semakin rendah penurunan log menunjukkan ketahanan sel bakteri semakin tinggi, sedangkan semakin tinggi penurunan log maka ketahanan sel bakteri semakin rendah.

Hasil ANOVA dengan taraf $\alpha = 5\%$ menunjukkan bahwa faktor konsentrasi tepung pepaya memberikan pengaruh nyata terhadap ketahanan sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada kondisi asam lambung, namun faktor lama penyimpanan serta interaksi antara kedua faktor tidak berpengaruh nyata. Uji DMRT ($\alpha = 5\%$) pengaruh konsentrasi tepung pepaya terhadap ketahanan sel *L. acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada kondisi asam lambung tercantum pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh Konsentrasi Tepung Pepaya terhadap Ketahanan Sel Terimobil pada Kondisi Asam Lambung

Hasil penelitian pada Gambar 1. menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi tepung pepaya, ketahanan sel semakin meningkat yang dapat dilihat dari penurunan jumlah sel bakteri yang lebih

rendah. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan tepung pepaya membantu Ca-alginat dalam membentuk matriks yang semakin mampu melindungi bakteri probiotik di dalamnya. Tepung pepaya mengandung komponen berupa serat yaitu serat larut (pektin) dan serat tidak larut (selulosa dan hemiselulosa). Selulosa dan hemiselulosa tidak berpengaruh jika dicampurkan pada larutan asam tanpa pemanasan (Yuanita, 2009), sementara serat larut berupa pektin dapat mengisi kekosongan rongga pada *beads* Ca-alginat sehingga menghasilkan matriks gel yang lebih rapat yang melindungi sel-sel bakteri didalamnya yang aktif bermetabolisme. Hal tersebut juga didukung oleh sifat pektin yang stabil pada pH rendah yaitu kisaran pH 2-4 (Farikha *et al.*, 2013) sehingga saat kontak dengan asam lambung, kestabilan gel tidak terganggu dan tetap dapat mempertahankan struktur gel.

KESIMPULAN

Penggunaan konsentrasi tepung pepaya 6% secara nyata mampu meningkatkan ketahanan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada kondisi asam lambung. Interaksi konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan berpengaruh nyata terhadap ketahanan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada kondisi garam empedu. Ketahanan sel tertinggi dengan penurunan sel 0,1459 log cfu/g diperoleh dari kombinasi perlakuan konsentrasi tepung pepaya 6% dan 21 hari penyimpanan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi melalui Program Penelitian Desentralisasi 2015 yang telah membiayai penelitian ini sebagai bagian dari Penelitian 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

- Collins, M.D. dan G.R. Gibson. 1999. Probiotics, Prebiotics, and Symbiotics: Approaches for Modulating the Microbial Ecology of The Gut. *Am J Clin Nutr* 69: 1052S-1057S.
- Farikha, I.N., C. Anam, E.Widowati. 2013. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Bahan Penstabil Alami Terhadap Karakteristik Fisikokimia Sari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Selama Penyimpanan. *Jurnal Teknosains Pangan* Vol 2 No 1 Januari 2013
- 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.
- Holzappel, W. H., P. Haberer, R. Geisen, J. Björkroth, and U. Schillinger. 2001. Taxonomy and Important Features of Probiotic Microorganisms in Food and Nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(2): 365-373.
- Lee, K.I. and T.R. Heo. 2000. Survival of Bifidobacterium longum Immobilized in Calcium Alginate Beads in Simulated Gastric Juices and Bile Salt Solution. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 869-973.
- Nuraida, L., S. Winarti, Hana, dan E. Prangdimurti. 2011. Evaluasi In Vitro terhadap Kemampuan Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Air Susu Ibu untuk Mengasimilasi Kolesterol dan Mendekongjugasi Garam Empedu. *J. Teknol. dan Industri Pangan* 22(1): 46-52.
- Oh, S, S.H. Kim, and R.W. Worobo. 2000. Characterization and Purification of a Bacteriocin Produced by a Potential Probiotic Culture, *L. acidophilus* 30 SC. *J. Dairy Sci.* 83:2747-2754.
- Wijaya, I. 2015. Pengaruh Konsentrasi Na-Alginat dan Tepung Pepaya terhadap Ketahanan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 Terimobil pada Kondisi Asam Lambung dan Garam Empedu. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Yuanita, L. 2009. Analisis Monomer Sakarida dan Gugus Fungsi Kompleks Fe-Serat Pangan pada Perebusan Kondisi Asam. *Jurnal Ilmu Dasar* 10(1):49-55.