
VIABILITAS SOYGHURT *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* DAN *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM* SETELAH DILAKUKAN BEKU KERING

Oleh

Eka Noneng Nawangsih¹, Bintari Rizkia Sekar Tirani², Lia Siti Halimah³^{1,3}Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani²Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad YaniE-mail: ¹eka.noneng@lecture.unjani.ac.id, ²bintaririzkia@gmail.com,
³lia.dio28@gmail.com

Article History:

Received: 01-09-2022

Revised: 11-09-2022

Accepted: 20-10-2022

Keywords:

Soyghurt, Viabilitas, Beku Kering

Abstract: Soyghurt dalam bentuk beku kering umumnya dapat bertahan jauh lebih lama. Namun penurunan dapat terjadi penurunan jumlah koloni probiotik selama proses beku kering. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah koloni *L. acidophilus* dan *B. bifidum* sebelum dan setelah dilakukan beku kering. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain pretest-posttest design, terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif yang berisi susu kedelai dan 1 kelompok soyghurt. Pengulangan dilakukan secara duplo. Metode penghitungan jumlah koloni menggunakan metode Total plate count (TPC). Kesimpulan dari penelitian ini adalah jumlah koloni bakteri probiotik pada soyghurt sudah memenuhi standar SNI, yaitu $2,53 \times 10^9$ CFU/ml, namun setelah dilakukan beku kering terjadi penurunan menjadi $7,30 \times 10^4$ CFU/ml. Jumlah ini tidak memenuhi standar SNI. Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan jumlah koloni bakteri probiotik ini agar soyghurt beku kering ini dapat memenuhi standar SNI.

PENDAHULUAN

Yoghurt yang telah banyak dipasarkan umumnya menggunakan bahan dasar protein hewani, yaitu susu sapi. Sedangkan yoghurt dari bahan dasar protein nabati seperti kedelai (soyghurt) belum banyak dikenal. Bila dibandingkan dengan susu sapi, susu kedelai yang merupakan produk nabati memiliki kadar lemak jenuh yang lebih rendah sehingga aman bagi penderita penyakit kardiovaskular. Selain itu, susu kedelai mengandung isoflavon, salah satu jenis flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Fermentasi kedelai dapat meningkatkan nutrisi dan sifat fungsional kedelai karena metode pengolahan bahan makanan ini akan meningkatkan kandungan senyawa bioaktif dengan cara memecah

molekul besar dalam kedelai mentah menjadi molekul yang berukuran lebih kecil melalui proses hidrolisis enzimatis sehingga dapat dihasilkan sifat fungsional baru. Selain itu, proses fermentasi akan meningkatkan bioavailabilitas isoflavon sehingga fungsinya dapat ditingkatkan dan ini artinya pengolahan susu kedelai menjadi soyghurt merupakan pilihan yang tepat.

Pada umumnya, yoghurt dapat bertahan selama 7 hingga 21 hari apabila disimpan pada suhu 4 derajat Celsius Sedangkan yoghurt dalam bentuk beku kering dapat bertahan selama 6 bulan hingga 2 tahun. Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk mempertahankan kultur bakteri asam laktat (BAL) dan membuat yoghurt dapat bertahan lama adalah metode pengeringan beku atau yang biasa disebut dengan liofilisasi. Namun, tidak dapat dipungkiri bahwa proses tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri yang berujung pada terjadinya kematian BAL sehingga jumlah koloninya dapat menurun hingga 1 siklus log. Jumlah koloni bakteri di dalam produk yoghurt yang dianjurkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI) adalah 10^6 hingga 10^8 CFU/ml. Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai "Viabilitas soyghurt *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* setelah dilakukan beku kering"

LANDASAN TEORI

Produk yoghurt dalam bentuk beku kering dapat bertahan selama 6 bulan hingga 2 tahun. Sedangkan produk yoghurt dalam bentuk cair yang banyak dipasarkan hanya dapat bertahan selama 7 hingga 21 hari pada suhu 4 derajat Celsius.

Tidak seperti metode pengeringan konvensional, liofilisasi atau yang disebut metode beku kering bekerja dengan cara menghilangkan air melalui sublimasi kristal es dalam produk makanan yang telah dibekukan pada tekanan rendah. Pembekuan produk sebelum liofilisasi dapat menghambat proses kimia, biokimia, dan mikrobiologi produk tersebut sehingga rasa, bau, dan kandungan nutrisinya tidak berubah. Metode ini telah banyak digunakan untuk stabilisasi makanan berkualitas tinggi, bahan biologis, obat-obatan, bakteri penghasil starter, dan probiotik. Namun, sayangnya proses pembekuan produk tersebut dapat merusak struktur dan fungsi protein sel bakteri sehingga akan terjadi penurunan jumlah koloni setelah proses beku kering selesai dilakukan. Untuk melindungi bakteri dari kerusakan tersebut, maka diperlukan bahan krioprotektan yang tentunya bersifat krioprotektif sehingga meskipun akan tetap terjadi penurunan jumlah koloni, setidaknya penurunan tersebut tidaklah terlalu jauh.

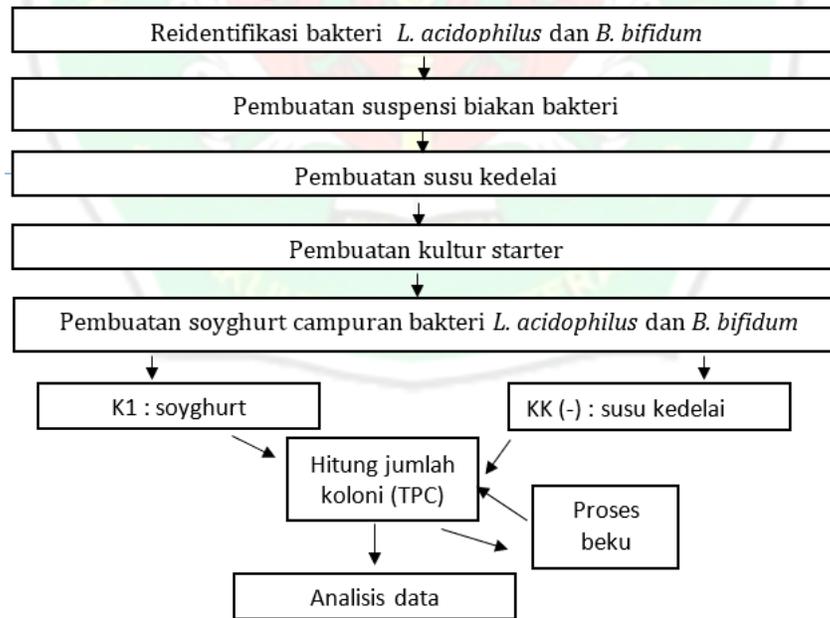
Secara umum, metode beku kering dibagi atas tiga tahap, yaitu pembekuan, pengeringan primer (sublimasi), dan pengeringan sekunder (desorpsi). Selain itu, metode beku kering dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu beku kering vakum dan beku kering yang dilakukan di bawah tekanan atmosfer. Metode beku kering vakum secara umum dilakukan pada suhu rendah di bawah 50°C dan tekanan rendah di bawah tekanan uap permukaan es. Beku kering vakum ini lebih dianjurkan untuk makanan bertekstur lembut, sensitif terhadap panas, dan makanan yang sifat dan nutrisinya harus dipertahankan, seperti soyghurt pada penelitian ini. Sedangkan metode beku kering lainnya dilakukan di

bawah tekanan atmosfer pada suhu -30°C hingga -60°C dengan kelembababn udara yang rendah, namun proses ini membutuhkan waktu hingga tiga kali lebih lama daripada metode beku kering vakum .

METODE PENELITIAN

Penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain penelitian *pretest-posttest design*. Bakteri Uji *ada* soyghurt ini merupakan campuran *L. acidophilus* ATCC 4356 dan *B. bifidum* ATCC 29521. Variabel independent pada penelitian ini, berupa jumlah koloni bakteri *L. acidophilus* dan *B. bifidum* pada kelompok uji coba sebelum proses beku kering, sedangkan variabel dependen pada penelitian ini, berupa jumlah koloni bakteri *L. acidophilus* dan *B. bifidum* pada kelompok uji coba setelah proses beku kering. Penentuan jumlah pengulangan pada penelitian ini mengikuti aturan SNI untuk metode *Total Plate Count* (TPC), yaitu sebanyak dua kali pengulangan (duplo) untuk setiap perlakuan. Sampel soyghurt yang telah dibuat dijadikan satu lalu dibuat dalam dua kali pengulangan (duplo) untuk penghitungan jumlah koloni bakteri. Pada penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok, KK merupakan kelompok control yang hanya berisi susu kedelai, sedangkan KU merupakan kelompok Uji yang berisi soyghurt.

Berikut ini adalah alur penelitian yang dilakukan :

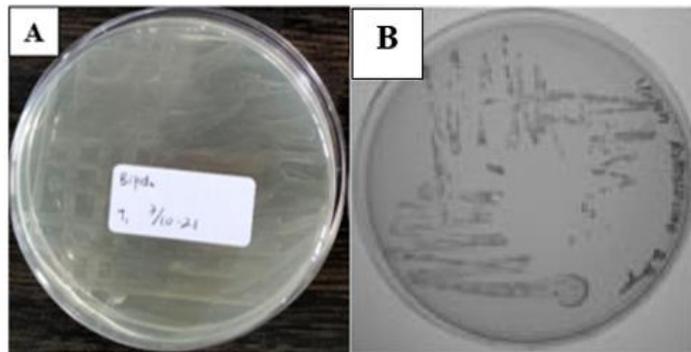


. Gambar 1. Alur penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif untuk mengetahui gambaran jumlah koloni bakteri probiotik yang ada pada soyghurt sebelum dan setelah dilakukan beku kering. Pelaksanaan penelitian menggunakan spesies bakteri *L. acidophilus* ATCC 4356 dan *B. bifidum* ATCC 29521. Penelitian ini mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani.

HASIL DAN PEMBAHASAN

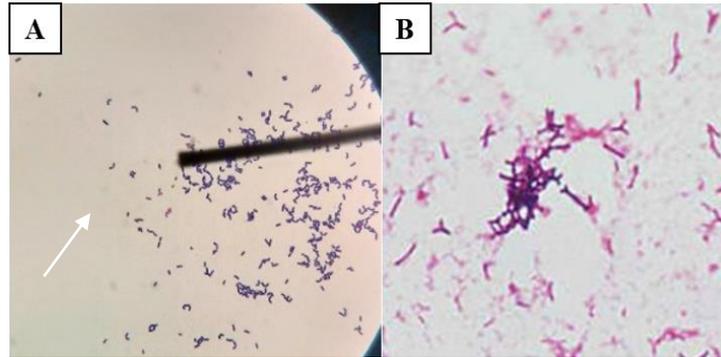
Proses reidentifikasi bakteri secara mikroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk dan warna bakteri di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x setelah dilakukan pewarnaan Gram. Pada gambar 2 di bawah ini, dapat dilihat adanya gambaran bakteri berbentuk batang (basil) dan berwarna ungu yang memberi arti bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif. Gambaran tersebut sesuai dengan parameter di samping gambar hasil penelitian dan literatur yang menyebutkan bahwa *L. acidophilus* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang yang bersifat anaerob dan tidak membentuk endospore [15]. Maka dari itu dapat disimpulkan bahwa bakteri tersebut memang benar merupakan *L. acidophilus*. Hasil reidentifikasi *B. bifidum* ATCC 29521 secara makroskopis dapat dilihat pada gambar 2 di bawah. Koloni *B. bifidum* terlihat tidak berwarna dan bentuknya mengikuti arah goresan ose. Koloni tersebut berbatas tegas dengan permukaan koloni yang sedikit menimbul. Gambaran koloni tersebut mirip dengan gambaran koloni pada gambar B sebagai parameter koloni *B. bifidum*. Menurut Li M (2019), koloni *B. bifidum* terlihat berbentuk bulat halus, berwarna putih, dan masing-masing berukuran sekitar 1-1,5 mm. Perbedaan tersebut kemungkinan diakibatkan oleh perbedaan teknik kultur, dimana *B. bifidum* pada penelitian Li M (2019) ditanam dengan metode *pour plate*, sedangkan *B. bifidum* pada penelitian kali ini ditanam dengan metode *streak* [16].



Gambar 2. Koloni *B. bifidum* ATCC 29521 pada media MRSA

A: hasil penelitian. B: parameter untuk metode *streak plate*, dikutip dari Kawasaki S, Nagasaku M, Mimura T, Katashima H, Ijyuin S [17].

Hasil reidentifikasi *B. bifidum* ATCC 29521 secara mikroskopis pada sediaan oles dengan pewarnaan Gram dengan perbesaran mikroskop 1000x dapat dilihat pada gambar 3 di bawah ini. Pada gambar 4.4 dapat dilihat adanya gambaran bakteri berwarna ungu gelap dan berbentuk batang pendek dengan beberapa formasi bakteri membentuk huruf Y, sesuai dengan gambaran *B. bifidum* pada literatur yang ada [17]. Apabila gambar A dibandingkan dengan gambar B, maka gambaran yang terbentuk di antara keduanya sama, maka dari itu, dapat dipastikan bahwa bakteri tersebut memang benar merupakan *B. bifidum*.



Gambar 3. B.bifidum ATCC 29521 pada pewarnaan Gram

A: hasil penelitian. B: parameter, dikutip dari L  k   a, Romond MB, Mulli   C [18]

Jumlah Koloni Bakteri Pada Soyghurt Sebelum dan Sesudah Proses Beku Kering

Koloni bakteri yang tumbuh pada permukaan MRSA yang telah diinkubasi selama 1 x 24 jam pada inkubator CO₂ dapat dihitung dengan metode TPC menggunakan alat *colony counter*. Jumlah koloni yang didapatkan dari tiap-tiap hasil pengenceran kemudian dihitung rata-ratanya dan dinyatakan dalam satuan CFU/ml. Tabel 4.1 di bawah ini berisi jumlah koloni yang telah dihitung dari tiap-tiap kelompok soyghurt sebelum dan sesudah proses beku kering, beserta selisih dari hasil TPC masing-masing kelompok uji coba.

Tabel 1. Perbandingan Jumlah Koloni BAL Pada Soyghurt Sebelum dan Sesudah Beku Kering

Kelompok Uji Coba	Hasil TPC		Selisih Penurunan (CFU/ml)
	Sebelum Beku Kering (CFU/ml)	Sesudah Beku Kering (CFU/ml)	
K (-)	0	0	0
K1	$2,53 \times 10^9$	$3,45 \times 10^4$	$7,30 \times 10^4$

Keterangan : K (-): (susu kedelai), K1: (soyghurt),

Berdasarkan hasil perhitungan nilai TPC sebelum beku kering pada tabel 1 di atas, jumlah koloni *L. acidophilus* dan *B. bifidum* pada kelompok yang hanya berisi soyghurt tanpa penambahan apapun (K1), yaitu sebesar $2,53 \times 10^9$ CFU/ml. Nilai tersebut telah memenuhi standar minimal yang dianjurkan oleh SNI untuk jumlah koloni bakteri di dalam produk yoghurt, yaitu 10^6 hingga 10^8 CFU/ml [10]. Penelitian yang dilakukan oleh Atsari AG (2012) menunjukkan bahwa jumlah koloni *L. acidophilus* pada susu kedelai impor tanpa penambahan gula adalah $1,8 \times 10^7$ CFU/ml [19]. Hal ini menunjukkan bahwa komponen karbohidrat yang terkandung di dalam susu kedelai jenis US sebenarnya sudah cukup untuk menghasilkan jumlah minimal TPC minuman probiotik, apalagi jika minuman probiotik tersebut mengandung dua jenis bakteri seperti pada penelitian kali ini yang jumlah koloninya memiliki selisih 10^2 CFU/ml lebih tinggi daripada penelitian Atsari AG (2012) yang hanya mengandung satu jenis bakteri [19]. Namun sayangnya jumlah koloni pada K1 mengalami penurunan menjadi $3,45 \times 10^4$ CFU/ml, menandakan bahwa K1 dalam bentuk beku kering tidak memenuhi syarat untuk dapat dikonsumsi.

Penurunan jumlah koloni pada soyghurt sesudah dilakukan beku kering terjadi karena selama pembekuan produk pada proses beku kering atau liofilisasi terjadi kerusakan struktur dan fungsi sel bakteri akibat hilangnya stabilitas sel. Syok osmotik yang dialami oleh sel-sel bakteri akibat hilangnya air dalam jumlah yang sangat banyak pada saat proses pengeringan dicurigai sebagai faktor utama kerusakan sel bakteri [8]. Oleh karena itu, untuk meminimalisir terjadinya peristiwa tersebut, maka diperlukan penambahan bahan pelindung sel bakteri yang disebut dengan krioprotektan dan prebiotik untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan bakteri probiotik [20]. Oleh karena itu agar jumlah bakteri probiotiknya dapat memenuhi standar SNI setelah dilakukan beku kering, peneliti mengusulkan agar soyghurt ini ditambahkan krioprotektan dan prebiotik.

KESIMPULAN

Jumlah koloni bakteri probiotik pada soyghurt sudah memenuhi standar SNI, yaitu $2,53 \times 10^9$ CFU/ml (lebih dari 10^7 CFU/ml), namun setelah dilakukan beku kering terjadi penurunan sebanyak $3,45 \times 10^4$ CFU/ml menjadi $7,30 \times 10^4$ CFU/ml. Jumlah ini tidak memenuhi syarat SNI, oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan jumlah koloni bakteri probiotik ini agar soyghurt beku kering ini dapat memenuhi standar SNI.

PENGAKUAN/ACKNOWLEDGEMENTS

Saya mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Pengabdian Pada Masyarakat Universitas Jenderal Achmad Yani (LPPM Unjani) yang telah memberikan dukungan dana untuk pelaksanaan penelitian ini. Kami pun mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran khususnya staf Departemen Mikrobiologi FK Unjani yang telah menyediakan sarana prasarana dan bantuan teknis pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Banerjee S, Pandey R, Gorai T, Shrivastava SL, Haldar S. Review on Soy Milk and Other Soy Milk Based Products. *International Research Journal of Food and Nutrition* 2019; 1(1): 1-5.
- [2] Yoon G, Park S. Antioxidant Action of Soy Isoflavons on Oxidative Stress and Antioxidant Enzyme Activities in Exercised Rats. *Nutrition Research and Practice* 2014; 8(6): 618–24.
- [3] Hassan SM. Soybean, Nutrition and Health. In: El-Shemy H, editor. *Soybean : Bio-Active Compounds*. Cairo University:2013
- [4] Labiba NM, Marjan AQ, Nasrullah N. Research Study. Pengembangan Soyghurt (Yoghurt Susu Kacang Kedelai) Sebagai Minuman Probiotik Tinggi Isoflavon. 29 September 2020; 244–49
- [5] Kyakma S, Sunday A. Effect of Temperature on The Shelf Life of Nono (Locally Fermented Milk) and Yoghurt. *IJEAB* 2018; (1): 268–73.
- [6] Santos G, Nogueira RI, Rosenthal A. Powdered Yoghurt Produced by Spray Drying and Freeze Drying : A Review. *Brazilian Journal of Food Technology* 2018; 1-9.

-
- [7] Soenarno MS, Arief II, Sumantri C, Taufik E, Nuraida L. Karakterisasi Plantarisin IIA-1A5 sebagai Antimikroba dan Evaluasi Aktivitas Sediaan Kering Beku Terenkapsulasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 2020; 9(1): 30-7.
- [8] Tari AIN, Handayani CB, Hartati S. Effect of Cryoprotectant Concentration on Starter Culture Viability Sinbiotic Yogurt with Freeze Dried Sweet Potato Extract Supplementation. *Int J Adv Trop Food* 2020; 2(1): 8–17.
- [9] Nisa F, Kusnadi J, Chrisnasari R. Viability and Sublethal Detection of Probiotic Bacteria on Instant Freeze Dried Fermented Soy Milk (Study on Isolate Type and Sucrose Concentrations as Cryoprotectant). *Jurnal Teknologi Pertanian* 2016; 9(1): 45.
- [10] SNI.
- [11] Dziki D. Processes. Recent Trends in Pretreatment of Food before Freeze-Drying. 16 December 2020; 8(166): 1-18.
- [12] Bhambere D, Trust ME, Harwalkar M, Pharma A. Lyophilization/Freeze Drying-a review. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 27 January 2016; 4(8): 516-543.
- [13] Nowak D. The Freeze-Drying of Foods — The Characteristic of the Process Course and the Effect of Its Parameters on the Physical Properties of Food Materials. *Foods* 2020; 9(1488): 1-27.
- [14] Ellab Validation Solutions. The Freeze Drying Theory and Process - Things to Consider. Ellab White Pap 2018; 1–16.
- [15] E, Engekirk, P., & Duben-Engelkirk, J. (2016). *Burton's Microbiology For The Health Sciences* (D. B. Troy (ed.); 9th ed., Issue April). Lippincott williams & wilkins.
- [16] Li M, Jin Y, Wang Y, Meng L, Zhang N, Sun Y, et al. Preparation of Bifidobacterium breve encapsulated in low methoxyl pectin beads and its effects on yogurt quality. *J Dairy Sci*. 2019;102(6):4832–43.
- [17] Kawasaki S, Nagasaku M, Mimura T, Katashima H, Ijyuin S. Effect of CO₂ on Colony Development by Bifidobacterium Species. *Appl Environ Microbiol*. 2019;73(23):7796–8.
- [18] Léké a, Romond MB, Mullié C. Insights in the Human Bifidobacterial Flora Through Culture- Dependent and Independent Techniques. *Appl Microbiol*. 2007;(June 2014):758–65.
- [19] Atsari AG. Pengaruh Penambahan Glukosa Terhadap Lama Fermentasi dan Total Plate Count *Lactobacillus acidophilus* pada Media Susu Kedelai. Cimahi: Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani. 2012.
- [20] Shoaib M, Shehzad A, Omar M, Rakha A. Inulin : Properties, Health Benefits and Food Applications. *Carbohydrate Polymers* 2017: 444–54.

HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN