

---

## KESETARAAN JUMLAH KOLONI PROBIOTIK SOYGHURT BEKU KERING ANTARA METODE TPC DAN SPEKTROFOTOMETER

Oleh

Eka Noneng Nawangsih<sup>1</sup>, Khansa Nisrina Khaerunnisa<sup>2</sup>, Nurjannah Achmad<sup>3</sup>,  
Teja Koswara<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani

<sup>2</sup>Program Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani

<sup>3</sup>Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani

<sup>4</sup>Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani

Email: [1eka.noneng@lecture.unjani.ac.id](mailto:1eka.noneng@lecture.unjani.ac.id)

---

### Article History:

Received: 10-01-2024

Revised: 18-01-2024

Accepted: 13-02-2024

### Keywords:

Soyghurt, Spektrofotometer,  
TPC

**Abstract:** Soyghurt yang ditambahkan inulin dan sukrosa, jumlah bakterinya akan meningkat dibandingkan dengan soyghurt yang tidak diberi inulin dan sukrosa. Hal ini disebabkan karena sifat inulin sebagai prebiotik yang menunjang pertumbuhan bakteri probiotik dan sukrosa sebagai krioprotektan yang mempertahankan viabilitas soyghurt. Pengukuran jumlah koloni dapat dihitung dengan metode Total Plate Count (TPC) dan spektrofotometer. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh rumus kesetaraan jumlah koloni dari metode TPC dan spektrofotometer. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif untuk mendapatkan rumus kesetaraan. Seluruh data diolah menggunakan microsoft excel. Rumus kesetaraan didapat dengan meregresikan jumlah koloni TPC dan spektrofotometer. Dari hasil penelitian ini, didapatkan rumus kesetaraan dari kedua metode yaitu  $y = 71613x - 192,55$  dengan nilai korelasi  $R^2 = 0,9185$ . Kesimpulan dari penelitian ini adalah didapatkannya pola analisis regresi dari metode TPC dan spektrofotometer, semakin tinggi jumlah bakteri dari metode TPC maka akan semakin tinggi nilai absorbansi dari metode spektrofotometer. Selain itu, Nilai korelasi yang mendekati angka 1 ( $R^2 = 0,9185$ ) menunjukkan bahwa tingkat kepercayaan pada kurva mendekati sempurna.

---

## PENDAHULUAN

Probiotik *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) dan *Bifidobacterium bifidum* (*B. bifidum*) termasuk kedalam Bakteri Asam Laktat (BAL). BAL adalah organisme yang bermanfaat karena dapat memfermentasikan molekul karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. Probiotik adalah mikroorganisme baik yang hidup secara natural dalam usus manusia dan dapat memberikan dampak positif bagi kesehatan usus manusia. Beberapa manfaat probiotik adalah membantu proses pencernaan, meningkatkan kekebalan tubuh,

antibiotik alternatif, penghasil bakteriosin, dapat mengatasi sindrom iritasi pada usus besar dan gangguan pada sistem pencernaan. Berbeda dengan prebiotik, prebiotik adalah bahan makanan yang tidak dapat dicerna yang memberikan manfaat positif bagi inangnya dengan memberikan stimulasi pada salah satu atau beberapa bakteri yang hidup di kolon sehingga dapat meningkatkan kesehatan inangnya.

Metode TPC adalah salah satu uji mikrobiologis secara kuantitatif. Uji mikrobiologi merupakan salah satu jenis uji yang penting karena bisa memperkirakan daya simpan makanan yang memerlukan syarat jumlah bakteri tertentu, juga dapat digunakan sebagai indikator sanitasi makanan untuk keamanan makanan. Metode TPC memiliki kelemahan yaitu terdapat batasan untuk menghitung bakteri sehingga kisaran penghitungannya sempit, yaitu 25-250 CFU bakteri. Kelemahan lainnya dari metode ini adalah jumlah bakteri dalam CFU yang tercatat terkadang tidak sama antar teknisi. Hal ini karena data bakteri yang tercatat adalah data mentah dan perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh pengalaman teknisi yang berbeda-beda, morfologi koloni dan densitas koloni. Metode spektrofotometer adalah metode untuk mengukur berapa banyak substansi kimia dengan mengukur banyak absorbansi cahaya pada sampel larutan. Fotometer akan mengukur intensitas cahaya yang diabsorbansi. Metode spektrofotometer memiliki kelebihan yaitu dapat mengetahui kualitas dari substansi yang diteliti secara langsung, sehingga hal ini memudahkan peneliti untuk meningkatkan kualitas substansi yang dipakai. Kelebihan lainnya, spektrofotometer dapat mendeteksi karakteristik substansi yang sangat luas, sehingga jumlah bakteri dapat dihitung tanpa adanya perbedaan seperti halnya pada metode TPC, selain itu metode ini memiliki kelebihan tidak menimbulkan polusi, tidak merusak, mudah digunakan, dan sudah sering digunakan dalam produk makanan. Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk membandingkan jumlah bakteri probiotik pada soyghurt probiotik *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dengan penambahan inulin dan sukrosa dengan menggunakan metode TPC dan spektrofotometer”.

## LANDASAN TEORI

Metode TPC adalah salah satu uji mikrobiologi yang mampu menghitung kepadatan bakteri dengan prosedur yang sederhana. Metode TPC biasa digunakan untuk menghitung jumlah atau angka bakteri mesofil aerob yang mungkin mencemari suatu produk, baik itu makanan-minuman, air, dan produk lainnya. Metode TPC termasuk kedalam uji mikrobiologis dan merupakan uji kuantitatif.

Metode spektrofotometer adalah metode untuk mengukur berapa banyak substansi kimia dengan mengukur banyak absorbansi cahaya pada sampel larutan. Metode ini termasuk kedalam metode analisis kuantitatif yang digunakan dalam bidang kimia, fisika, biokimia, Teknik material, teknik kimia serta penggunaan klinis. Metode spektrofotometer terdiri atas dua alat yaitu spektrometer dan fotometer. Alat ini akan menghasilkan cahaya yang disebut *beam* dan dilewatkan ke gelombang tertentu sehingga dihasilkan sinar dengan panjang gelombang tertentu lalu panjang gelombang tertentu ini akan diukur dengan alat fotometer. Fotometer akan mengukur intensitas cahaya yang diabsorbansi. Hasil dapat terbaca langsung dan dicatat oleh detektor dan tercetak dalam angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan. Jenis spektrofotometer dibagi menjadi dua berdasarkan kelasnya yaitu *single beam* dan *double beam*. Dimana perbedaan antara kedua kelasnya yaitu, *single beam*

komponen disusun tunggal, dan pemeliharannya lebih mudah. Pada jenis *double beam* terdapat dua berkas cahaya setelah melewati monokromator. Pembacaan sampel dan standar dapat dilakukan bersamaan sehingga pengukuran menjadi independen dari variasi intensitas sumber cahaya. Hasil kepadatan bakteri dapat dihitung dengan membuat regresi linear sehingga didapatkan persamaan yang menghubungkan konsentrasi dengan absorbansi. Bahan yang akan diteliti yang telah diketahui konsentrasinya akan diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer lalu didapatkan nilai konsentrasi versus absorbansi. Regresi linear tersebut dapat menggunakan Microsoft excell atau kalkulator spesifik.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif untuk mendapatkan data yang kemudian akan dianalisis untuk memperoleh rumus kesetaraan antara metode TPC dan spektrofotometer. Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah soyghurt *L. acidophilus* dan *B. bifidum* beku kering dengan penambahan inulin dan sukrosa. Kriteria inklusi: soyghurt yang digunakan merupakan soyghurt beku kering yang diencerkan dengan susu kedelai. kriteria eksklusi: Adanya jamur dengan manifestasi bintik bintik putih, coklat, dan kehijauan pada soyghurt. Tercium aroma tengik seperti susu basi pada soyghurt. Soyghurt tampak berair dan terdapat gumpalan di dalamnya. Sampel tersebut dihitung secara duplo dan masing-masing diencerkan sampai 20 kali pengenceran. Masing-masing kelompok kemudian dihitung dengan metode TPC kemudian dibandingkan dengan hasil pengukuran spektrofotometer.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berikut ini adalah hasil penghitungan bakteri dengan metode TPC dan spektrofotometer yang kemudian dibuat kurva dan rumus kesetaraan jumlah bakteri dari kedua metode tersebut.

### Penghitungan dengan metode TPC

Penghitungan dengan metode TPC dilakukan secara duplo. Berdasarkan hasil penghitungan menggunakan metode TPC didapatkan hasil terendah (dalam rentang 25 – 250 CFU/ml) pada pengenceran 10<sup>8</sup> [8], yaitu  $2,75 \times 10^{20}$ . Nilai tersebut sudah memenuhi SNI yaitu 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> CFU/ml. Tabel 1 adalah hasil penghitungan jumlah bakteri dengan metode TPC dari masing masing pengenceran.

**Tabel 1. Penghitungan jumlah koloni dengan metode TPC**

Pengenceran	TPC 1 (CFU/ml)	TPC 2 (CFU/ml)	Rata rata (CFU/ml)
10 <sup>1</sup>	TBUD	TBUD	TBUD
10 <sup>2</sup>	TBUD	TBUD	TBUD
10 <sup>3</sup>	TBUD	TBUD	TBUD
10 <sup>4</sup>	TBUD	TBUD	TBUD
10 <sup>5</sup>	TBUD	TBUD	TBUD
10 <sup>6</sup>	TBUD	TBUD	TBUD
10 <sup>7</sup>	TBUD	TBUD	TBUD
10 <sup>8</sup>	TBUD	TBUD	TBUD
10 <sup>9</sup>	TBUD	TBUD	TBUD

$10^{10}$	$8,29 \times 10^{22}$	$5,52 \times 10^{22}$	$7,22 \times 10^{22}$
$10^{11}$	$5,55 \times 10^{21}$	$3,71 \times 10^{21}$	$4,63 \times 10^{21}$
$10^{12}$	$5,73 \times 10^{20}$	$1,36 \times 10^{20}$	$3,54 \times 10^{20}$
$10^{13}$	$4,10 \times 10^{19}$	$2,58 \times 10^{19}$	$3,34 \times 10^{19}$
$10^{14}$	$4,40 \times 10^{18}$	$2,19 \times 10^{18}$	$3,29 \times 10^{18}$
$10^{15}$	$1,81 \times 10^{17}$	$1,31 \times 10^{17}$	$1,56 \times 10^{17}$
$10^{16}$	$1,86 \times 10^{16}$	$1,04 \times 10^{16}$	$1,45 \times 10^{16}$
$10^{17}$	$1,00 \times 10^{14}$	$7,5 \times 10^{14}$	$8,75 \times 10^{14}$
$10^{18}$	$5,4 \times 10^{13}$	$5,4 \times 10^{13}$	$5,4 \times 10^{13}$
$10^{19}$	$3,0 \times 10^{12}$	$2,5 \times 10^{12}$	$2,75 \times 10^{12}$
$10^{20}$	$8,00 \times 10^{10}$	$6,00 \times 10^{10}$	$7,00 \times 10^{10}$

Keterangan: TBUD (Terlalu banyak untuk dihitung), TPC 1 (perlakuan pertama), TPC 2 (perlakuan kedua)

### **Penghitungan jumlah bakteri dengan metode Spektrofotometer**

Penghitungan jumlah koloni dilakukan secara *duplo* untuk setiap pengenceran menggunakan panjang gelombang 350 nm. Rentang gelombang 340 - 450 nm dapat digunakan untuk larutan yang berwarna kuning. Berikut ini adalah nilai absorbansi pada sediaan KN (susu kedelai saja) sebagai kontrol negatif, K1 (inulin + sukrosa), dan K1-KN adalah selisih nilai absorbansi antara kedua kelompok tersebut.

**Tabel 2. Pengukuran menggunakan spektrofotometer**

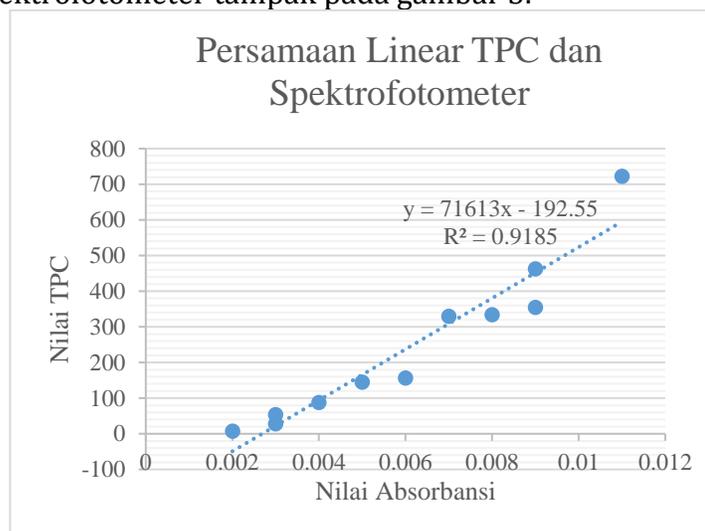
<b>Pengenceran</b>	<b>K1</b>	<b>KN</b>	<b>K1-KN</b>
$10^1$	3,671	3,145	0,526
$10^2$	0,869	0,547	0,322
$10^3$	0,331	0,077	0,254
$10^4$	0,154	0,038	0,116
$10^5$	0,077	0,031	0,046
$10^6$	0,031	0,014	0,017
$10^7$	0,025	0,011	0,014
$10^8$	0,023	0,009	0,014
$10^9$	0,022	0,009	0,013
$10^{10}$	0,019	0,008	0,011
$10^{11}$	0,017	0,008	0,009
$10^{12}$	0,016	0,007	0,009
$10^{13}$	0,014	0,006	0,008
$10^{14}$	0,012	0,005	0,007
$10^{15}$	0,011	0,005	0,006
$10^{16}$	0,009	0,004	0,005
$10^{17}$	0,007	0,003	0,004
$10^{18}$	0,006	0,003	0,003
$10^{19}$	0,005	0,002	0,003
$10^{20}$	0,004	0,002	0,002

Keterangan: K1 (soyghurt dengan penambahan inulin + sukrosa), KN (susu kedelai, kontrol

negatif)

### Hasil Regresi dan Rumus Kesetaraan

Hasil analisis regresi nilai jumlah koloni dan nilai absorbansi dari metode TPC dan spektrofotometer menghasilkan rumus kesetaraan kedua metode tersebut. Rumus kesetaraan yang dihasilkan adalah  $y = 71613x - 192,55$  dengan nilai korelasi  $R^2 = 0,9185$ . Nilai korelasi menunjukkan nilai yang mendekati 1 sehingga dapat dikatakan bahwa tingkat kepercayaan kurva mendekati sempurna. Berikut adalah kurva regresi spektrofotometer dan TPC. Berikut adalah kurva linear yang menunjukkan rumus kesetaraan nilai TPC dan nilai absorbansi spektrofotometer tampak pada gambar 3.



**Gambar 3. Kurva Persamaan Spektrofotometer dan TPC**

Pada penelitian yang dilakukan oleh Portia Mira dkk (2022) mengatakan bahwa kurva standar yang dapat dipercaya apabila nilai R mendekati 1 atau 0,99. Dalam penelitian tersebut menggunakan regresi polynomial didapatkan nilai 0,99 [11]. Selain itu terdapat penelitian yang dilakukan oleh Seniati dkk (2019) menyatakan bahwa terdapat hubungan korelasi antara nilai OD atau spektrofotometer dengan kepadatan bakteri. Semakin tinggi nilai kepadatan bakteri maka nilai OD juga semakin tinggi [12]. Hal ini sesuai dengan penelitian ini yang menunjukkan bahwa setiap peningkatan jumlah koloni bakteri, maka nilai absorbansi juga meningkat.

### KESIMPULAN

Berikut adalah kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan:

1. Jumlah koloni probiotik dari sampel soyghurt beku kering dengan penambahan inulin dan sukrosa adalah 27,5 pada pengenceran  $10^{19}$  didapatkan dari metode TPC. Nilai absorbansi yang didapatkan pada pengenceran  $10^{19}$  adalah 0,003.
2. Berikut adalah rumus kesetaraan jumlah koloni *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dengan metode TPC dan spektrofotometer  $y = 71613x - 192,55$  dengan nilai korelasi  $R^2 = 0,9185$ . Nilai korelasi yang mendekati angka 1 menunjukkan bahwa tingkat kepercayaan pada kurva mendekati sempurna.

1968

JIRK

Journal of Innovation Research and Knowledge

Vol.3, No.9, Februari 2024

---

### Pengakuan/Acknowledgements

Kami mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Pengabdian Pada Masyarakat (LPPM) Universitas Jenderal Achmad Yani yang telah mendanai penelitian ini, juga kepada staf laboran Departemen Mikrobiologi dan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sitonang SN, Roza E, Rossi E, Aritonang SN, et al. PROBIOTIK & PREBIOTIK dari Kedelai untuk Pangan Fungsional [Internet]. 2019. Available from: [www.indomediapustaka.com](http://www.indomediapustaka.com)
- [2] Gaspar C, Donders GG, Palmeira-de-Oliveira R, Queiroz JA, Tomaz C, et al. Bacteriocin production of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* KS400. *AMB Express*. 2018 Dec 1;8(1).
- [3] Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, Wang J, Sailer M, et al. Prebiotic inulin-type fructans induce specific changes in the human gut microbiota. *Gut*. 2017 Nov 1;66(11):1968–74.
- [4] Sukmawati B, Simohon I. Analisis Angka Lempeng Total Mikroba Pada Ikan Kembung (*Rastrelliger sp.*) Segar di Tempat Pelelangan Ikan Kota Sorong Papua Barat. Vol. 11, Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan. 2020.
- [5] Sutton S. The limitations of CFU: Compliance to CGMP requires Good Science. 2012.
- [6] Mubarok F. Spektrofotometer Prinsip dan Cara Kerjanya [Internet]. Surabaya; 2021 Jun. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/352291658>
- [7] Muñiz R, Cuevas-Valdés M, de la Roza-Delgado B. Milk quality control requirement evaluation using a handheld near infrared reflectance spectrophotometer and a bespoke mobile application. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2020 Mar 1;86.
- [8] Arando A, Gonzalez A, Delgado J, Arrebola FA, Perez-Marín CC. Storage temperature and sucrose concentrations affect ram sperm quality after vitrification. *Anim Reprod Sci*. 2017 Jun 1;181:175–85
- [9] Yuniastuti A. Probiotik (Dalam Perspektif Kesehatan) Potensi Gizimikro Seng (Zn) Sebagai Immunostimulan Respon Imun Seluler Pada Demam Tifoid View Project Metagenomics And Metabolomics Analysis Of Intestinal Microbiota For Characterization Of Domestic Duck Immunity Profile View Project [Internet]. 2019. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/320441645>
- [10] Kristianingrum S. Spektrofotometer UV dan Sinar Tampak. Universitas Yogyakarta. 2018.
- [11] Mira P, Yeh P, Hall BG. Estimating microbial population data from optical density. *PLoS One*. 2022 Oct 1;17(10 October).
- [12] Seniati, Marbiah, Irham A. Pengukuran Kepadatan Bakteri *Vibrio Harveyi* Secara Cepat Dengan Menggunakan Spektrofotometer. 2019.